

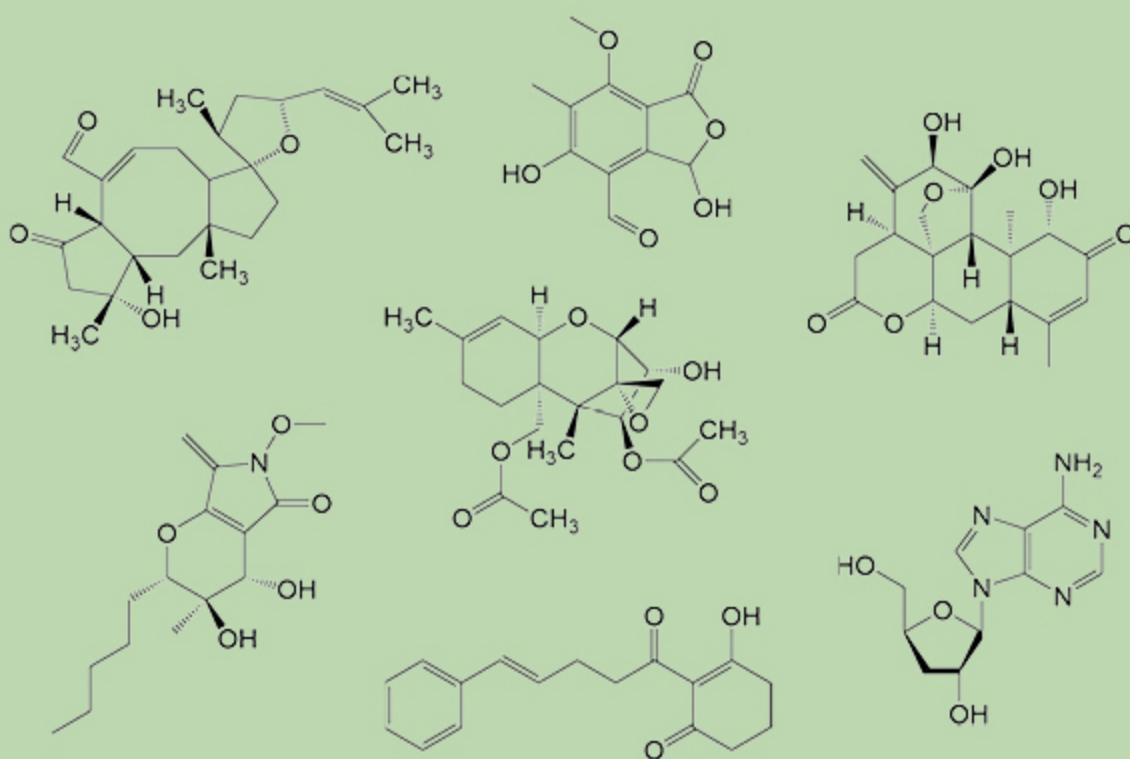


ISSN 1727-1320 (Print),  
ISSN 2308-6459 (Online)

# ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

## PLANT PROTECTION NEWS

2023 TOM 106 ВЫПУСК 1  
VOLUME ISSUE



Санкт-Петербург  
St. Petersburg, Russia

Для оформления обложки использованы структурные формулы некоторых фитотоксинов, упоминающихся в статье А.О. Берестецкого (стр. 5–25).

For the cover design, structural formulas of some selected phytotoxins mentioned in the paper by A.O. Berestetskiy (pp. 5–25) were used.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
“Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений”  
(ФГБНУ ВИЗР)

All-Russian Institute of Plant Protection

ISSN 1727-1320 (Print),  
ISSN 2308-6459 (Online)

# В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

---

PLANT PROTECTION NEWS

2023    TOM    106    ВЫПУСК    1  
          VOLUME            ISSUE

Санкт-Петербург  
St. Petersburg, Russia  
2023

# ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Научно-теоретический рецензируемый журнал

Основан в 1939 г.

Издание возобновлено в 1999 г.

Учредитель: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

Зарегистрирован в ГК РФ по печати № 017839 от 03 июля 1998 г.

Главный редактор: В.А. Павлюшин

Зам. гл. редактора: В.И. Долженко, Ю.С. Токарев

Ответственный секретарь: В.К. Моисеева

Технический секретарь: С.Г. Удалов

Корректор англоязычных текстов: Ю.С. Токарев

Технический помощник: А.Г. Конончук

**Журнал «Вестник защиты растений» (ISSN: 1727-1320) включен в «Перечень изданий ВАК РФ» по следующим научным специальностям и отраслям науки:**

**1.5.14** – Энтомология (биологические науки),

**1.5.18** – Микология (биологические и сельскохозяйственные науки),

**4.1.1** – Общее земледелие. Растениеводство (биологические и сельскохозяйственные науки),

**4.1.2** – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (биологические и сельскохозяйственные науки),

**4.1.3** – Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений (биологические и сельскохозяйственные науки)

**Индексируется в РИНЦ, CrossRef & DOAJ**

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

*Афанасенко О.С.*, дбн, академик РАН, ВИЗР

*Белоусов И.А.*, кбн, ВИЗР

*Белякова Н.А.*, кбн, ВИЗР

*Власенко А.Н.*, дсxn, академик РАН,  
СибНИИЗиХ СФНЦА РАН

*Власов Д.Ю.*, дбн, СПбГУ

*Ганнибал Ф.Б.*, кбн, ВИЗР

*Гончаров Н.Р.*, ксxn, ВИЗР

*Гричанов И.Я.*, дбн, ВИЗР

*Дзянь Синьфу*, профессор, КНР

*Долженко В.И.*, дсxn, академик РАН, ВИЗР

*Егоров Е.А.*, дэн, академик РАН, СКФНЦСиВ

*Захаренко В.А.*, дсxn, академик РАН, МНИИСХ

*Игнатов А.Н.*, дбн, РУДН

*Косман Е.*, профессор, Израиль

*Каракотов С.Д.*, дхн, академик РАН,  
ЗАО “Щелково Агрохим”

*Краснов Ч.*, PhD, Израиль

*Кюссон М.*, PhD, Канада

*Лаврищев А.В.*, дсxn, СПбГАУ

*Лаптиева А.Б.*, дбн, ООО “ИЦЗР”

*Лулева Н.Н.*, кбн, ВИЗР

*Лысов А.К.*, ктн, ВИЗР

*Мавроди Д.*, профессор, США

*Надыкта В.Д.*, дтн, академик РАН, ВНИИБЗР

*Намятова А.А.*, кбн, ЗИН

*Новикова И.И.*, дбн, ВИЗР

*Павлюшин В.А.*, дбн, академик РАН, ВИЗР

*Радченко Е.Е.*, дбн, ВИР

*Савченко И.В.*, дбн, академик РАН, ВИЛАР

*Санин С.С.*, дбн, академик РАН, ВНИИФ

*Сидельников Н.И.*, дсxn, академик РАН, ВИЛАР

*Синев С.Ю.*, дбн, ЗИН

*Соколова Ю.Я.*, дбн, США

*Сорока С.В.*, дсxn, профессор, Белоруссия

*Сухорученко Г.И.*, дсxn, ВИЗР

*Ули-Маттила Т.*, профессор, Финляндия

*Токарев Ю.С.*, дбн, ВИЗР

*Упадышев М.Т.*, дбн, член-корреспондент РАН, ВСТИСП

*Фролов А.Н.*, дбн, ВИЗР

*Хлесткина Е.К.*, дбн, ВИР

*Шамшев И.В.*, кбн, ЗИН

*Шпанев А.М.*, дбн, АФИ

## Ответственные редакторы выпуска:

Н.А. Белякова, Ф.Б. Ганнибал, В.И. Долженко, Ю.С. Токарев

Россия, 196608, Санкт-Петербург – Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ВИЗР

Email: [vestnik@vizr.spb.ru](mailto:vestnik@vizr.spb.ru)

<https://plantprotect.ru>



Содержимое данного выпуска распространяется на условиях Creative Commons Attribution License 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## СОДЕРЖАНИЕ / CONTENT

<b>Предисловие к 106 тому</b> . . . . .	4
<b>Preface to the 106<sup>th</sup> volume.</b> . . . . .	4
<i>Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews</i>	
<b>Перспективы разработки новых гербицидов на основе природных соединений</b>	
<b>А.О. Берестецкий</b>	
Prospects for the development of new herbicides based on natural compounds A. Berestetskiy. . . . .	5
<b>РНК-интерференция в изучении функций генов у тлей и других полужесткокрылых и борьбе с их вредными представителями</b>	
<b>А.В. Конарев</b>	
RNA interference in the study of gene functions in aphids and other hemipterans and the fight against their harmful representatives A.V. Konarev . . . . .	26
<b>Скрининг биоресурсов насекомых и клещей для биологического контроля вредителей в защищенном грунте</b>	
<b>Н.А. Белякова, В.А. Павлюшин</b>	
Screening insects and mites for biological control of pests in greenhouses N.A. Belyakova, V.A. Pavlyushin . . . . .	49
<i>Полнотекстовые статьи / Full-text articles</i>	
<b>Практический опыт разведения и применения хищного клопа <i>Podisus maculiventris</i> в условиях Западной Сибири</b>	
<b>И.В. Андреева, В.П. Цветкова, Н.И. Агриколянская, В.С. Масленникова, Е.И. Шаталова, А.А. Зенкова</b>	
Practical experience of breeding and use of predatory bug <i>Podisus maculiventris</i> in Western Siberia I.V. Andreeva, V.P. Tsvetkova, N.I. Agrikolyanskaya, V.S. Maslennikova, E.I. Shatalova, A.A. Zenkova . . . . .	71
<b>VII Съезд Паразитологического общества: итоги и актуальные задачи</b> . . . . .	80
<b>VII Meeting of Parasitological Society: results and actual goals</b> . . . . .	80

## **ПРЕДИСЛОВИЕ К 106 ТОМУ**

Уважаемые читатели, вашему вниманию предлагается 106 том журнала «Вестник защиты растений». Первый выпуск открывается обзорной работой Берестецкого А.О., где рассмотрены различные аспекты разработки новых биорациональных гербицидов. Продолжается начатая в прошлом году публикация серии обзоров, посвященных инновационным подходам в защите растений на молекулярном уровне, статьёй Конарева А.В., где рассматриваются возможности РНК-интерференции для изучения биологии и контроля численности вредных Homoptera. Традиционную тематику биометода развивают обзорная работа Беляковой Н.А. и Павлюшина В.А., в которой показано, как биологические

свойства энтомофагов определяют перспективы их практического использования, и экспериментальная работа Андреевой И.В. с соавт., связанная с применением хищного клопа против колорадского жука. В последующих выпусках текущего тома журнал планирует продолжать публикацию обзорных и экспериментальных статей, сфокусированных на наиболее актуальных проблемах защиты растений.

Издание поддерживает политику открытого доступа, в 2021 году журнал перешел на формат, соответствующий правилам лицензии Creative Commons, а с 2023 года «Вестник защиты растений» индексируется в Директории журналов открытого доступа DOAJ.

*Редколлегия*

## **PREFACE TO THE 106<sup>TH</sup> VOLUME**

Dear readers, here comes the 106<sup>th</sup> volume of “Plant Protection News”. The first issue is started with the review by A.O. Berestetskiy which consider different aspects of development of novel biorational herbicides. A series of reviews devoted to innovative approaches of molecular plant protection is continued by a paper from A.V. Konarev where RNA-interference capabilities for examination of biology and control of pestiferous Homoptera. The traditional topic of biocontrol is amended by two papers. The first is the review by N.A. Belyakova & V.A. Pavlyushin who demonstrate how biological properties of arthropod predators and parasites

define their prospectives for practical implications. The second is the experimental research by I.V. Andreeva et al. concerning the use of a predatory bug against the Colorado potato beetle. In the following issues of the current volume we plan a continuation of publication of reviews and experimental works focused on the most actual problems of plant protection.

The edition conforms with the open access standards and in 2021, the Creative Commons-compatible format has been accepted. Moreover, since 2023, “Plant Protection News” is indexed by the Directory of Open Access Journals DOAJ.

*Editorial Office*

## ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

А.О. Берестецкий

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: [aberestetskiy@vizr.spb.ru](mailto:aberestetskiy@vizr.spb.ru)

Применение химических гербицидов (ХГ) для борьбы с сорными растениями входит в технологии выращивания большинства основных сельскохозяйственных культур. Регулярное их использование может приводить к таким последствиям как загрязнение почвы и грунтовых вод, накопление их остатков в урожае, появление резистентных популяций сорных растений. В связи с этим актуальна разработка экологически малоопасных ХГ с новыми механизмами действия. Прототипами действующих веществ ХГ могут служить природные фитотоксины растительного или микробного происхождения. В обзоре рассмотрены: 1) основные современные тенденции в разработке химических гербицидов; 2) практические достижения в применении природных соединений для борьбы с сорняками; 3) использование фитотоксинов в качестве базовых структур синтетических гербицидов. Анализ литературы позволил выделить важные подходы для создания биорациональных ХГ: 1) сочетание виртуального скрининга библиотек природных соединений с высокопроизводительным биотестированием отобранных веществ *in vitro* и *in vivo*; 2) компьютерное моделирование и оптимизация молекул с использованием физико-химических предикторов и молекулярного докинга; 3) разработка новых адьювантов и препаративных форм ХГ, в частности, наноразмерных, для снижения норм расхода действующих веществ и рисков их накопления в окружающей среде. Возможно, использование этих подходов в скором времени приведет к обнаружению новых перспективных гербицидных молекул для использования не только в органическом, но и в «неорганическом» сельском хозяйстве.

**Ключевые слова:** химические гербициды, биорациональные гербициды, скрининг, препаративные формы, синтез, механизмы действия, природные соединения

Поступила в редакцию: 18.10.2022

Принята к печати: 29.12.2022

### Введение

Перед современным сельским хозяйством стоит сложная задача: обеспечить продовольствием население планеты при минимальном отрицательном воздействии на окружающую среду. Борьба с сорными растениями, как постоянным компонентом антропогенных экосистем, имеет решающее значение для реализации потенциала сельскохозяйственных культур. Так, по данным 2013–2014 гг. потери урожая пшеницы от засоренности посевов в Северной Америке достигают 22%, а при отсутствии химических мер борьбы – 35% (<https://wssa.net/wp-content/uploads/Wheat-yield-loss-POSTER.pdf>, 30.09.2021). В Индии засорённость арахиса приводит к потере 36%, сои – 31%, кукурузы – 25%, пшеницы – 19% потенциального урожая (Chauhan, 2020). Оценка вредоносности сорных растений на Северо-Западе РФ показала, что причиняемый ими вред выражается потерями урожая зерна яровой пшеницы на уровне 3.9 ц/га (11%), с колебаниями значений по годам от 3.6 до 18.2% (Шпанев, 2016). На юго-востоке ЦЧЗ сорные растения снижают урожай возделываемых культур на 5–15%, а на отдельных полях – на 25% (Шпанев, 2013). В связи с этим объемы применения химических гербицидов (ХГ) во всем мире, в том числе, и в России, как правило, превышают количество используемых других химических средств защиты растений – фунгицидов, инсектицидов и др. (Dayan, 2019; Говоров и др., 2021).

В современных системах растениеводства, особенно в развитых странах мира, доминирует парадигма крупномасштабного, интенсивного, механизированного земледелия с использованием ограниченного числа культур, а также интенсивного применения минеральных удобрений и химических средств защиты растений, прежде всего, ХГ. Это приводит к загрязнению грунтовых вод ксенобиотиками, нецелевому угнетению культурных растений, утрате естественной растительности, снижению биоразнообразия почв и негативному воздействию на здоровье работников сельского хозяйства и потребителей (MacLaren et al., 2020). Регулярно запрещается применение действующих веществ пестицидов, опасных для здоровья человека и животных, что стимулирует поиск более активных, но менее токсичных ХГ. Некоторые высокотоксичные гербициды (например, атразин и паракват) запрещены к применению или ожидается запрет на их (например, глифосината и глифосата) использование. При этом, препараты на основе глифосата занимают более трети рынка гербицидов России, США и многих других стран (Михайликова и др., 2020; Науудов et al., 2021), что формирует потенциальный дефицит неселективных ХГ.

Появление резистентных к ХГ популяций сорных растений – серьезная проблема земледелия, хотя в России она пока стоит менее остро, чем в странах Западной Европы и США (Колупаев, 2021). Без надлежащих мер по

выведению на рынок ХГ с новыми механизмами действия в сочетании с согласованными глобальными усилиями по правильному их использованию и регулированию сорняки могут снизить мировое производство продуктов питания в ближайшие годы на 20–40%, что приведет к возможному глобальному кризису продовольственной безопасности со значительными экономическими и социальными последствиями (Haywood et al., 2021). К сожалению, использование трансгенных культур, устойчивых к ряду гербицидов, и укрупнение химических компаний привело к тому, что за последние 25 лет не было внедрено ни одного гербицида с принципиально новым механизмом действия. Проблема появления резистентных к гербицидам сорных растений в развитых странах признана настолько серьезной, что ее сравнивают с проявлением множественной резистентности к антибиотикам у патогенных для человека микроорганизмов.

В последнее время на научной проблеме разработки новых средств борьбы с сорными растениями сфокусировано серьезное внимание: в 2018–2022 гг. отмечен взрывной

рост теоретических и экспериментальных публикаций на тему разработки новых гербицидов. В обзоре общепризнанных специалистов по разработке средств борьбы с сорными растениями (Westwood et al., 2018) было отмечено, что в перспективе до 2050 года наиболее вероятно будет выявлено не более 3–4 новых молекулярных мишеней для гербицидов и соответствующих действующих на них молекул, при этом будут разрабатываться и шире применяться биорациональные (биологические и биохимические) гербициды. С учетом этого тренда данный обзор литературы посвящен решению проблемы разработки биорациональных гербицидов с использованием природных фитотоксинов. В нем будут рассмотрены: 1) основные современные тенденции в разработке химических гербицидов, которые могут быть важны при создании биорациональных гербицидов; 2) успехи в разработке и практическом применении природных соединений для борьбы с сорняками; 3) использование фитотоксинов как прототипов синтетических или полусинтетических гербицидов.

### Современные тенденции в разработке гербицидов

Химические гербициды (ХГ) – это препараты для борьбы с сорной растительностью, которые должны характеризоваться: 1) быстрой и высокой эффективностью при низких нормах расхода в широком диапазоне температур; 2) уникальным механизмом действия (для борьбы с резистентными видами); 3) селективностью; 4) безопасностью для нецелевых организмов; 5) низкой себестоимостью; 6) стабильностью в препаративной форме; 7) быстрым разложением в природе до нетоксичных метаболитов (Cobb, Reade, 2010). В состав жидких или твердых товарных форм гербицидных препаратов помимо действующего вещества входят многочисленные вспомогательные компоненты: смачиватели, пенетранты, растворители, буферы, микробициды, прилипатели, УФ-протекторы, пеногасители и другие (например: инертные наполнители, красители и одоранты). Эти компоненты повышают стабильность гербицидов при хранении и их эффективность в полевых условиях. Состав препаратов зависит от свойств действующего вещества, способа применения гербицида, целевых сорных растений и защищаемых культур, представляя собой, как правило, коммерческую тайну (Захарычев, 2021; Mesnage, 2021). В последнее время отмечен большой прогресс в методах скрининга гербицидных молекул, изучении механизмов их действия, а также в способах применения ХГ.

**Скрининг.** Для поиска гербицидных молекул используют два основных алгоритма: классический «фенотипический» подход, базирующийся на определении степени фитотоксической активности и симптоматике, вызываемой тестируемыми веществами, и современный «направленный» подход, основанный на скрининге веществ-ингибиторов определенной молекулярной мишени (ММ) *in vitro*. Алгоритм исследований фенотипического подхода следующий: (а) обнаружить химическое вещество, обладающее фитотоксической активностью *in vivo*; (b) диагностировать механизм действия (МД) / ММ как известный или неизвестный класс; (c) установить ММ, если вещество относится к неизвестному ранее классу; (d) оптимизировать химическую структуру для получения

коммерческого продукта в соответствии с вышеуказанными требованиями к ХГ. Алгоритм направленного подхода включает следующие этапы: (а) выбрать целевой белок (ММ); (b) обнаружить химические вещества, обладающие ингибирующей активностью в отношении ММ *in vitro*; (c) улучшить химическую структуру для достижения активности *in vivo*; (d) оптимизировать структуру ХГ для получения коммерческого продукта (Nachisu, 2021).

Для выявления соединения-лидера по общим оценкам необходимо проанализировать не менее 150000 веществ (Qu et al., 2021). В связи с этим трудозатратные опыты на растениях в тепличных или контролируемых условиях проводятся, как правило, на финальных стадиях поисковых исследований. Для ускорения и оптимизации выбора веществ для биотестирования вначале применяют расчетные методы на основе анализа структуры и физико-химических свойств библиотек веществ, а также молекулярного докинга (если предполагается известная целевая ММ); только затем проводят высокопроизводительную биооценку *in vitro*.

Источником информации для виртуального скрининга могут быть опубликованные химические структуры и их базы данных; для биологического тестирования могут быть привлечены любые коммерческие или оригинальные библиотеки синтетических и природных соединений. Зачастую для этого используются специализированные наборы образцов лекарственных веществ (Wang et al., 2022), поскольку некоторые из них, как было показано, обладают фитотоксическими свойствами, например: сульфаниламидные антибиотики (Schreiber et al., 2012), салициловая кислота (Gao et al., 2018), гипотензивные (Abdullah et al., 2021) и противомалярийные вещества (Sukhoverkov et al., 2021), а также статины (Haywood et al., 2022). Существуют и специализированные коммерческие библиотеки гербицид-подобных соединений (например, <https://otavachemicals.com/products/screening-compounds-for-agrochemical-discovery/herbicides-like-library> или <https://lifechemicals.com/screening-libraries/targeted-and-focused-screening-libraries/agrochemical-library>). В России



библиотеками синтетических веществ располагают, к примеру, Исследовательский институт химического разнообразия (<https://ihr.ru/about>) и компания Interbioscreen Ltd. (<https://www.ibscreen.com/>).

Для создания оригинальных библиотек синтетических соединений используют: 1) продукты комбинаторной химии; 2) новые синтетические молекулы, структурно близкие к известным гербицидам, 3) синтетические и природные молекулы, «модернизированные» структурными фрагментами, характерными для уже известных гербицидных молекул (Guan et al., 2014), например, фторсодержащими (Jeschke, 2022; Wang et al., 2022). Грубые экстракты из природных источников (бактерий, грибов и растений) представляют собой также своеобразные библиотеки веществ, из которых могут быть выделены новые фитотоксичные соединения.

**Виртуальный скрининг.** Для поиска гербицидных молекул активно используются расчетные методы хемо- и биоинформатики, апробированные для разработки новых лекарственных препаратов. С использованием имеющегося опыта создания ХГ и с учетом их биологической активности, физико-химических свойств и мобильности в растениях предложены предикторы, которые позволяют отбирать перспективные молекулы. К ним относятся: молекулярная масса (200–450 Да), липофильность ( $\log P$  1–5), количество групп акцепторов (1–9) и доноров водородной связи (0–2), число вращающихся связей (1–8) и некоторые другие параметры (Gandy et al., 2015; Zhang et al., 2018; Chen et al., 2022). В целом, показано сходство физико-химических свойств гербицидов и лекарственных препаратов, в частности, для лечения малярии (Sukhoverkov et al., 2021). Разрабатываются базы данных и методы машинного обучения для виртуальной оценки любых молекул в качестве потенциальных гербицидов (Huang et al., 2021; Oršolić et al., 2021). Разработаны расчетные методы, предсказывающие общую токсичность тех или молекул, в том числе и гербицидных соединений (Clark, 2018; Pires et al., 2022); в РФ создана программа PASS, позволяющая предсказать спектр биологической активности органических соединений (Filimonov et al., 2018). В компании BASF разработана внутренняя БД для определения МД/ММ гербицидов (Chiddarwar et al., 2017). Если гербицидная мишень уже известна, подбор молекул с оптимальными физико-химическими и токсикологическими свойствами можно вести на основе молекулярного докинга. На его основе можно моделировать оптимизированные химические структуры с максимальным сродством к ММ. После отбора перспективных молекул с помощью виртуального скрининга необходима валидация их свойств при помощи биотестов *in vitro* и/или *in vivo*.

**Методы биооценки.** При необходимости тестирования большого числа веществ (с учетом их высокой стоимости) широко используют подходы высокопроизводительного скрининга, которые типично проводятся в 24- или 96-луночных планшетах. Упрощенно, заданные навески соединений, растворенные в воде, ацетоне или диметилсульфоксиде (ДМСО), добавляют в питательный субстрат для культивирования водорослей или для проращивания семян растений (конечная концентрация ацетона в среде не должна превышать 10%, ДМСО – 1%). Через 1–7 суток инкубации определяют оптическую плотность клеточных

культур или наблюдают за прорастанием семян и ростом всходов (Sukhoverkov et al., 2021; Flieller et al., 2022).

При тестировании гербицидов на различных растениях путем измерения длины корней и побегов проростков наиболее воспроизводим биотест с использованием проростков салата *Lactuca sativa* L. (Macías et al., 2000), однако для этого следует соблюдать строгий протокол (Mendes et al., 2021). Проростки семян горчицы *Sinapsis alba* были в 3 раза более чувствительным к аллелопатическим веществам, чем проростки салата (Belz, Hurlle, 2004). Среди однодольных растений для проведения биотестов используют также *Agrostis stolonifera* L и *Alopecurus myosuroides* Huds. (Dayan et al., 2000; Messelhäuser et al., 2021), а также несколько видов водных макрофитов рода *Lemna* (например, *L. paucicostata* Hegelm., *L. minor* L., *L. gibba* L.) (Park et al., 2017; Loll et al., 2022). Хорошо зарекомендовали себя биотесты с проращиванием семян *Brassica campestris* L., *Cucumis sativus* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. в чашках Петри с добавлением гербицидных соединений (Li et al., 2010). Для высокопроизводительного скрининга также используется арабидопсис (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh), который проращивают и культивируют в планшетах на среде Мурасиге Скуга с 0.1% агарозы (Hess et al., 2001; Sukhoverkov et al., 2021). Работа с водорослями *Chlorella pyrenoidosa* H. Chick. (Ma et al., 2002) и *Chlamydomonas reinhardtii* R.W. Howshaw and H. Ettl (Alfred et al., 2012) позволяет быстро оценить ряд физиологических параметров, например, ингибирование фотосинтеза (Deng et al., 2014).

Разработаны многочисленные биотесты для проведения направленного скрининга гербицидных молекул. Так, например, описана методика оценки «острой» фитотоксичности гербицида диурон с использованием изолированных листьев *Halophila ovalis* (R. Brown) Hooke в 12-луночных планшетах с помощью анализа их флуоресценции (Wilkinson et al., 2015). Предложена методика флуоресцентного анализа для высокопроизводительного скрининга гербицидов, вызывающих быстрое перекисное окисление мембран, на основе того факта, что пероксид в клеточной жидкости может быть определен с помощью флуоресцентных соединений, образующихся после реакции с гомованиловой кислотой и пероксидазой (Kim et al., 2015). Разработана методика для идентификации и характеристики ингибиторов фотосинтеза C4 *in vivo*, которая основана на измерении выделения кислорода в среду клетками суспензионной культуры, полученной из хлореллы C4-растения *Bienertia sinuspersici* (Minges et al., 2019).

Разработана флуоресцентная платформа для направленного скрининга *in vivo* молекул, действующих на 4-гидроксибензилпируватдиоксигеназу (ГФПД) – ММ ряда гербицидов. Усовершенствованная флуоресцентная метка обладает хорошей способностью визуализации ГФПД *in situ* в живых клетках и рыбках Данио, а также прямой видимый мониторинг ингибирования этого фермента в растениях в режиме реального времени (Fu et al., 2022).

**Механизмы действия и молекулярные мишени гербицидов.** Разделение действующих веществ ХГ по их механизмам действия (МД) или молекулярным мишеням (ММ) позволяет планировать их ротацию и снизить риск

возникновения резистентности у сорных растений (Захарычев, 2021). В настоящее время знание МД/ММ гербицидов является фундаментальным аспектом в их разработке (Székács, 2021). Известно 26 МД гербицидов (<https://hracglobal.com/files/FactSheet.pdf>), которые токсичны для растений за счет нарушений: 1) биохимических путей и физиологических процессов, связанных с фотосинтезом (преимущественно за счет генерации активных форм кислорода), 2) критических стадий метаболизма и 3) роста растений (Dayan, 2019).

Для борьбы с резистентными к широко используемым ХГ популяциями сорных растений ведется поиск новых ММ, а для ряда хорошо известных гербицидных молекул они до сих пор уточняются. С целью первичной диагностики ММ гербицидных веществ, отобранных в результате фенотипического скрининга, оценивают симптоматику поражения растений и проводят ряд физиолого-биохимических тестов, результаты которых характерны для различных групп гербицидов с уже известными МД (Grossmann, 2005). Для валидации диагностированных при помощи «физиономики» МД разработаны стандартные протоколы (Dayan et al., 2015 а). Для выявления новых ММ гербицидов адаптированы метаболомные (Aliferis, Chrysai-Tokousbalides, 2011; Grossmann et al., 2012), транскриптомные (Duke et al., 2013) и геномные методы (Duke et al., 2018). Для поиска новых ММ и их ингибиторов перспективно выявление и оценка количественного содержания тех или иных ключевых белков и ферментов в клетках растений, а также изучение механизмов резистентности растений к ХГ (Yan et al., 2018; Dayan, Duke, 2020; Nachisu, 2021). Например, сочетание физиолого-биохимических и омиксных подходов позволило установить ММ для пироксасульфона (Tanetani et al., 2009).

Уточняются МД и ММ у уже внедренных ХГ или даже запрещенных в ряде стран таких веществ как производные фенола (Bettiol et al., 2015) и глюфосинат (Takano et al., 2020 а). Так, тиоэстераза жирных кислот, которая участвует в пути биосинтеза липидов растений, осуществляя высвобождение жирных кислот из ацилпереносящих белков в пластидах, необходимое для их последующего переноса в цитоплазму и эндоплазматический ретикулум, была недавно идентифицирована как мишень цинметилина, коммерциализированного еще в середине 1980-х годов (Campe et al., 2018).

Знание кристаллической структуры ММ позволяет рационально моделировать структуру их новых ингибиторов, обладающих принципиально новыми химическими скелетами. Так, с помощью этого подхода разрабатываются ХГ на основе пиримидин-бифениловых гибридов в качестве новых ингибиторов синтазы ацетогидроксициклогексеновой кислоты (Li et al., 2018), производных урацила – ингибиторов протопорфириногенаксидазы (Yang et al., 2020, 2021), производных трикетон-хиназолин-2,4-диона – ингибиторов ГФПД (Qu et al., 2021). Смоделирована и синтезирована серия оптимизированных потенциальных ингибиторов фитоен-десатуразы – производных 3-фенокси-4-(3-трифторметилфенил)пиридазинов, некоторые из которых проявили до- и послевсходовую гербицидную активность при норме расхода 750 г/га, сравнимую с дифлуфениканом (Yang et al., 2021).

Относительно недавно внедрены новые ауксиновые гербициды Agylex™ и Rinskor™, нарушающие гомеостаз индолил-уксусной кислоты (Epp et al., 2016; Herrera et al., 2021; Xu et al., 2022). Новые алкилазиновые гербициды Specticle™ и Alion™ на основе индазифлама ингибируют биосинтез целлюлозы в растениях (Ahrens et al., 2015). ГФПД – ММ трипирасульфона – нового ХГ из класса пирозолонов для борьбы с однолетними сорняками на рисовых чеках (Wang et al., 2021).

Выявлен ряд новых ММ, перспективных для направленного поиска их ингибиторов, например: транскетолаза, участвующая в биосинтезе липидов, аминокислот, нуклеотидов в клетках растений (Huo et al., 2018); инозитол фосфорилцерамидсинтаза, которая участвует в биосинтезе сфинголипидов растений (Pinneh et al., 2019); дигидродипиколинатсинтаза (ДДС), которая катализирует первую стадию биосинтеза лизина (Soares da Costa et al. 2021); гомогентизат-соланезилтрансфераза, которая катализирует декарбоксилирование и пренилирование гомогентизата с образованием 2-метил-6-соланезил-1,4-бензохинола в процессе биосинтеза пластохинона, в свою очередь задействованного в биосинтезе каротиноидов в качестве кофактора фитоен-десатуразы (Shino et al., 2021).

Несмотря на поиски веществ с новыми МД против сорных растений, они, как в последнее время считается, не станут панацеей от множественно устойчивых к ХГ сорных растений. Однако вещества, действующие на две и более ММ, возможно дольше сохранят свои высокие гербицидные свойства (Gressel, 2020; Gaines et al., 2021; Duke, Dayan, 2022). Возможен рациональный дизайн структуры таких двойных ингибиторов. Например, (Z)-2-(5-(4- метоксибензилиден)-2,4-диоксотиазолидин-3-ил) уксусная кислота действует на два различных фермента синтеза лизина у арабидопсиса дигидродипиколинатсинтазу и дигидродипиколинатредуктазу, что делает данное вещество интересным для разработки нового ХГ (Mackie et al., 2022).

**Современные тенденции в способах применения гербицидов.** Препаративные формы ХГ могут быть твердыми (в виде порошков, гранул или микрокапсул) и жидкими (истинные или коллоидные растворы в воде или органических растворителях, эмульсии и суспензии). Виды и состав препаративных форм пестицидов постоянно совершенствуются с целью сделать их применение максимально эффективным, удобным и безопасным (Tadros, 2018; Захарычев, 2021).

Основные общие тенденции в разработке препаративных форм пестицидов следующие: разработка рецептур с несколькими активными ингредиентами; использование водных эмульсий или микроэмульсий с минимальными объемами органических растворителей; замена пылящих порошков концентратами суспензий или диспергируемыми в воде гранулами; повышение адресности пестицидов с использованием форм с постепенным высвобождением действующих веществ (ДВ) или путем обработки семян; разработка рецептур таблеток и гелей; поиск адъювантов (вспомогательных веществ) для повышения биологической активности и снижения дозы пестицидов при опрыскивании (Knowles, 2008). Разработки товарных форм и способов применения ХГ соответствуют во многом этим трендам. Так, в последнее время много исследовательских

работ посвящено 1) разработке синергетических композиций различных ДВ; 2) поиску адъювантов, повышающих эффективность послевсходового применения ХГ; 3) разработке твердых форм ХГ пролонгированного действия для почвенного применения (Спиридонов и др., 2019, 2021); 4) использованию нанотехнологий в создании препаративных форм ХГ (Forini et al., 2022).

С помощью высокопроизводительного скрининга на проростках арабидопсиса изучено совместное действие 24 различных гербицидов с разными МД в 276 комбинациях. Наряду с известными комбинациями (мезотрион–атразин и атразин–кломазон) выявлено несколько новых синергетических смесей, один компонент которых обязательно относился к гербицидам, вызывающим обесцвечивание листьев: мезотрион–норфлуразон, мезотрион–клетодим и кломазон–паракват (Sukhoverkov, Mylne, 2021). В Южной Африке обнаружены резистентные популяции подорожника ланцетного (*Plantago lanceolata* L.), в 10 и 20 раз менее чувствительные соответственно к глифосату и параквату, чем дикие растения. Для борьбы с ними подобрана комбинация тербутилазина и S-метолахлора (497.2 г + 102.8 г ДВ/га) – гербицидов с различными МД (Ndou et al., 2022). Экспериментальное изучение устойчивости к гербицидам в различных популяциях *A. myosuroides* показало, что использование смесей ХГ может способствовать развитию у сорняков универсального механизма резистентности (Comont et al., 2020). Действительно, число популяций сорных растений, нечувствительных к ХГ с различными ДВ (от 2 до 8 и более), неуклонно растет (Vo et al., 2017; Togra et al., 2021), что потребует в будущем как более точного подбора препаратов, так и более активного использования агротехнических и биологических методов борьбы с сорняками (Riemens et al., 2022).

Очень важным компонентом рабочих растворов ХГ являются адъюванты – любые вещества, добавляемые либо в состав гербицида, либо в рабочий раствор, которые повышают гербицидную активность за счет улучшенного перемешивания, увеличения капельного покрытия поверхности листьев, удержания и предотвращения быстрого высыхания капель, улучшения проникновения ДВ через кутикулу листьев в клетки и т.д. (Kirkwood, 1993; Green, Foy, 2004; Pacanoski, 2015; Zimdahl, 2018). Следует отметить также, что некоторые адъюванты могут не только повысить эффективность, но и существенно изменить токсикологический профиль ХГ (Mesnage et al., 2014). Однако вместо синтетических компонентов возможно использование поверхностно-активных веществ природного происхождения, например, различных липидов (Gayathiri et al., 2022).

В зависимости от цели – обрабатываемых видов сорных и культурных растений и особенностей их анатомии, физико-химических свойств ДВ гербицида и других параметров, таких как размер капель при опрыскивании, из весьма обширных каталогов (<https://ppp.purdue.edu/wp-content/uploads/2016/11/PPP-115.pdf>) подбираются оптимальные адъюванты и их концентрации. Ниже приведем несколько различных примеров.

Оценка эффективности борьбы с однодольными сорняками диурина (0.075 кг/га) с 12 адъювантами (0.1 % об/об) в лабораторных и тепличных опытах показала, что кремнийорганические ПАВ снижали поверхностное натяжение

и угол контакта капель растворов для распыления диурина в большей степени, чем несиликоновые ПАВ. Отобраны три кремнийорганических адъюванта, которые значительно усилили ингибирующее воздействие гербицида на рост *E. crus-galli* (Singh et al., 2002). Эффективность формулы сульфурона против ряда сорных растений (*E. crus-galli*, *Setaria faberi* Herrtm., *Abutilon theophrastii* Medik.) была существенно повышена при использовании метилированного растительного масла (MSO Concentrate, Loveland Products, Inc. США) по сравнению с неионным ПАВ или растительным маслом. Причем, добавление азотного удобрения (аммиачной селитры или сульфата аммония) в рабочий раствор с учетом вида сорного растения и адъюванта еще больше повышало эффективность гербицида в полевых условиях (Bunting et al., 2004). Метилированное растительное масло не только снижает поверхностное натяжение и угол контакта капель, но и предотвращает их высыхание. Это, в свою очередь, обеспечивает более высокий уровень проникновения гербицидов в растительные ткани. Так, тропамезон вместе с метилированным соевым маслом (GY-HMax, КНР) проявил более высокую эффективность в отношении ряда сорных растений, чем без этого адъюванта (Zhang et al., 2013). Аммонийные удобрения совместно с другими адъювантами также способствуют более эффективному поглощению некоторых гербицидов (Kirkwood, 1993; Pacanoski, 2015).

При удачном подборе адъюванта норму расхода ДВ гербицидов удается заметно снизить. Так, использование неионного адъюванта INEX-A (Cosmolcel, Mexico), представляющего смесь полигликолей этоксилированных спиртов и арил-полиэтоксизанола и обладающего эффектами антииспарителя, пенетранта, диспергатора, совместно с глифосатом позволило снизить норму расхода ХГ, а также подавить прирост биомассы *Lolium rigidum* Gaudin и *Coryza canadensis* (L.) Cronq. Более того, адъювант способствовал более быстрому поглощению глифосата и его транслокации в растениях (Palma-Bautista et al., 2020). Поскольку подборка адъювантов с учетом их разнообразия и их концентраций – длительный и трудоемкий процесс, для ускорения разработана экспресс-методика, основанная на определении флуоресценции хлорофилла обработанных листьев (Zhang et al., 2022).

Препаративные формы ХГ пролонгированного действия обычно представляют собой нерастворимые в воде, физико-химически и/или биологически длительно разлагаемые гранулы, обычно содержащие в составе полимерный носитель (например, лигнин, полисахариды, полиэфиры) и различные добавки. Благодаря этому ДВ постепенно выделяется в окружающую среду, длительно сохраняя гербицидное действие в почве по сравнению с опрыскиванием. Такие препаративные формы предохраняют ДВ от жесткого воздействия внешних факторов, поддерживая их стабильность. Они менее опасны в применении и предотвращают попадание ХГ в грунтовые воды (Singh et al., 2020; Захарычев, 2021). В последнее время разработка таких форм пестицидов стала одним из трендов в агрохимии (Li et al., 2021).

В зависимости от используемых материалов и методов получают твердые препаративные формы ХГ в виде капсул или частиц, которые отличаются как структурно, так и по своему составу. Капсулы представляют собой

системы, состоящие из полимерной оболочки и ядра, где ДВ может быть растворено или адсорбировано на полимерной стенке (Soreña et al., 2009). Частицы (гранулы, микросферы) состоят только из матрицы, в которой ДВ либо адсорбированы, либо физически в ней удерживаются (Campos et al., 2014).

Инкапсулированный в полимочевину оксифлуорфен был стабилен и нетоксичен для риса (Rao et al., 2020, 2021). Пендиметалин был успешно инкапсулирован в полиуретанмочевину; состав оболочки существенно влиял на форму микрокапсул и высвобождение ДВ (Yılmaz et al., 2021). Препаративные формы (гранулы, таблетки) различных ХГ (метрибузин, трибенурон-метил, феноксапроп-п-этил) на основе биоразлагаемого бактериального поли-3-гидроксисутирата и природных материалов (глина, древесная мука, торф) продемонстрировали высокую стабильность, биологическую эффективность и низкую побочную токсичность. Их почвенное применение в полевых условиях было более эффективным, чем опрыскивание (Kiselev et al., 2019; Volova et al., 2020; Prudnikova et al., 2021; Петровская и др., 2022). Сходные результаты получены при использовании микрокапсул на основе поли(3-гидроксисутират-ко-4-гидроксисутират)а для контролируемого высвобождения трифлуралина (Cao et al., 2019).

В последнее десятилетие активно обсуждается использование нанотехнологий в разработке препаративных форм пестицидов. Преимущественно это относится к наночастицам – наноразмерным аналогам препаративных форм с контролируемым высвобождением ХГ (Oliveira et al., 2019). В их состав могут входить компоненты, высвобождающие ДВ при определённых условиях, например, при заданном уровне pH, освещенности, температуры, влажности, а также при наличии определённых растительных ферментов (Huang et al., 2018). Нанотехнологии позволяют создавать также жидкие формы ХГ (например, наноэмульсии) и наноадьюванты (например, на основе

биосурфактантов) (Forini et al., 2022; Ma et al., 2022). Предполагается, что использование наноматериалов в составах ХГ повысит их биологическую эффективность за счет улучшения поглощения и транслокации ДВ в растениях. Впрочем, из-за повышенной проникающей способности и более высокой биологической активности вопрос безопасности нанопестицидов для человека и окружающей среды открыт (Walker et al., 2018; de Albuquerque et al., 2020; Chaud et al., 2021).

Наночастицы хитозан-триполифосфата, нагруженные паракватом, оказывали более сильное ингибирующее воздействие на фотосистему I шпината, чем неинкапсулированный гербицид (Pontes et al., 2021). Для предотвращения быстрого испарения и/или вымывания гидрофильных гербицидов в сточные воды с использованием обратной миниэмульсионной матрицы в подсолнечном масле синтезированы наночастицы альгината для инкапсуляции дикамбы. Получен наногидрогель с размером частиц около 20 нм, что способствовало устойчивому и пролонгированному высвобождению этого гербицида в течение десяти дней (Artusio et al., 2022). Наноинкапсулированные в поликапролактон атразин и метрибузин были стабильны и более фитотоксичны, чем обычные препаративные формы на основе этих же ДВ (Wu et al., 2021; Takeshita et al., 2022). Биоразлагаемый и светочувствительный амфифильный полимер, синтезированный путем полиэтерификации, был использован для изготовления наноразмерных частиц с контролируемым высвобождением 2,4-Д, запускаемым освещением (Shan et al., 2022). Коммерциализирован наноадьювант для использования с рядом гербицидов на кукурузе (NanoExcel, Enviro Science Technology, <https://nanoagtechnologies.com/products/ag-products/nano-excel-30>).

Ниже будет рассмотрено, как некоторые вышеописанные подходы могут быть приложены к природным фитотоксинам.

### Возможности использования природных соединений в качестве биорациональных гербицидов

**Перспективные фитотоксины и коммерциализованные препараты.** С целью снижения объёмов применения синтетических ХГ и для борьбы с сорняками в органическом земледелии в различных странах ведутся разработки биологических и биорациональных (биохимических) гербицидов (БХГ) (Hasan et al., 2021; de Souza Barros et al., 2021). Фитотоксические вторичные метаболиты могут образовывать растения (эффект аллелопатии) и микроорганизмы (факторы патогенности или колонизации растений) (Vurro et al., 2018; Chaïb et al., 2021; Kalra et al., 2021; Palanivel et al., 2021). Фитотоксическими свойствами обладают представители различных классов природных соединений (Seigler, 2006; Xu et al., 2021). В качестве БХГ рассматривают также микробные препараты токсинного действия; грубые экстракты растительного или микробного происхождения; индивидуальные природные соединения (или их смеси) различной степени очистки (Kogres et al., 2019).

Многие природные фитотоксины демонстрируют селективность или высокую активность в отношении трудноискоренимых сорных растений, например, паразитических сорняков. Так, в модельных опытах показано, что метиловый эфир коричной кислоты может селективно

подавлять плевел (*L. rigidum*) в посевах пшеницы (Lorenzo et al., 2019). Грибной фитотоксин радицинин продемонстрировал селективность в отношении буфельской травы *Cenchrus ciliaris* L. – инвазивного растения для США – и отсутствие тератогенного, токсического или летального воздействия на эмбрионы рыбы *Brachydanio rerio* (Masi et al., 2019). Водный экстракт из полыни обыкновенной (*Artemisia vulgaris* L.) подавлял рост щирицы запрокинутой (*A. retroflexus*) и стимулировал рост защищаемых культур (Pannacci et al., 2020). Некоторые трихотеценовые токсины грибов рода *Fusarium* в очень низких концентрациях ингибируют прорастание семян паразитических сорняков, среди которых наиболее активным был диацетоксисцирпенол, полностью подавляющий прорастание семян *Striga hermontica* (Delile) Benth. и *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel при концентрации <1 мкМ (Zonno, Vurro, 2002; Anteyi et al., 2022). Некоторые природные соединения (например, фузикокицин, стриголактоны и их производные), наоборот, стимулируют их прорастание даже в отсутствие растения-хозяина, что приводит к гибели проростков паразитов (Vurro et al., 2009; Zwanenburg et al., 2016).

Список природных соединений, фитотоксичность которых в лабораторных опытах превышает эффективность

эталонных гербицидов, постоянно расширяется. Например, грибные метаболиты кордицепин и ряд производных  $\alpha$ -пирона продемонстрировали гербицидный эффект, превосходящий активность глифосата (Quy et al., 2019; Li et al., 2021); гербарумин I и харцианум A подавляли прорастание семян сорняков эффективнее, чем 2,4-Д (Rivero-Cruz et al., 2000; Yin et al., 2020). Некоторые сапонины агавы (при концентрации менее 60 мкг/л) были более фитотоксичными для *E. crus-galli*, чем гербицид Логран (Durán et al., 2021). Концентрация полумаксимального ингибирования ряски (*L. paucicostata*) таншинона I и таншинона IIА из биомассы шалфея (*Salvia* spp.) была на уровне некоторых коммерческих гербицидов (Da Cruz-Silva et al., 2021). Из листьев осота полевого (*Sonchus arvensis* L.) был выделены сесквитерпеноиды, которые проявили селективную фитотоксическую активность против щирицы запрокинутой (*A. retroflexus*) и мари белой (*Chenopodium album* L.) на уровне триасульфурона, не действуя при этом на пшеницу (Wu et al., 2022).

Многие из изученных природных фитотоксинов имеют уникальный МД и, таким образом, их применение может способствовать борьбе с устойчивыми к ХГ популяциями сорных растений (Duke et al., 2020, 2022). Пиренофорол был предложен как селективный гербицид для борьбы с овсюгом (Kastanias, Chrysai-Tokousbalides, 2000), чей механизм действия при метаболомном анализе отличался от действия широко используемых химических гербицидов глифосата, мезотриона, норфлуразона, параквата и диурона (Aliferis et al., 2006). Фитотоксин бактерии *Streptomyces scabies* Lambert and Loria такстомина А препятствует нормальному протеканию цитокинеза в клетках корня лука, ингибируя биосинтез целлюлозы (King et al., 2001; Loria et al., 2006). Агликон аскаулитоксина, образуемый грибом *Ascochyta caulina* (P. Karst.) Aa & Kesteren, у чувствительных растений воздействует на метаболизм аминокислот, ингибируя аминотрансферазы (Duke et al., 2011). Сарментин, выделенный из *Piper* spp., перспективен как БХГ, поскольку обладает несколькими МД на растения (действует на фотосинтез и ингибирует редуктазу еноил-ацилпереносящих белков), а также хорошо проникает через кутикулу листьев ряда сорных растений (Dayan et al., 2015). МД фитотоксина *Phoma macrostoma* Mont. макроцидина А заключается в нарушении биосинтеза каротиноидов, в число возможных молекулярных мишеней макроцидинов входят ферменты фитоен-десатураза и 1-дезоксид-Д-ксилозулозо редуктоизомераза (Hubbard et al., 2015, 2016). Аспергровая кислота, образуемая грибом *Aspergillus terreus* Thom, ингибирует дегидратазу дигидроксикислот растений (Yan et al., 2018). МД тенуазоновой кислоты заключается в блокировании фотосистемы II через ингибирование D1-белка (psbA) в тилакоидной мембране. Этот белок является молекулярной мишенью многих коммерческих гербицидов, в частности диурона, атразина, броманила, однако сайты связывания в активном центре белка D1 различны для перечисленных веществ (Chen et al., 2017). Недавно было выявлено, что микотоксины патулин и глиотоксин, также связываются с белком D1 (Guo et al., 2020, 2021). В обзоре Verdeguer et al. (2020) перечислены многочисленные нарушения, вызываемые в растениях эфирными маслами и их компонентами.

Большинство коммерческих БХГ на основе немодифицированных природных соединений пока ориентировано на органическое сельское хозяйство. Эти препараты, как правило, представляют собой продукты с коротким сроком годности, которые требуют высоких норм расхода и многократного применения (Marrone, 2021), обладают более низкой эффективностью и более высокой стоимостью, чем химические гербициды. (Duke et al., 2022; Cabregra-Pérez et al., 2022). Ряд штаммов бактерий *Streptomyces hygrosopicus* (Jensen) Yüntsen и *S. viridochromogenes* (Krainsky) Waksman and Henrici в культуре синтезируют биалафос. Биалафос выпускается в Японии, но имеет очень ограниченный рынок сбыта (Duke, Dayan, 2011, 2015). Несколько компаний разработали БХГ на основе пеларгоновой кислоты для использования в органическом земледелии (Cordeau et al., 2016). В США зарегистрирован гербицид Opportune™ на основе убитых клеток *S. acidiscabies* Lambert and Loria, действующим веществом которого является такстомина А (Koivunen, Marrone, 2013; Duke et al., 2022).

В связи с высокой востребованностью БХГ для «неорганического» растениеводства, в мире ведется постоянный поиск новых более эффективных гербицидных соединений природного происхождения. Сотрудники компании «Corteva» (США) выявили ряд грибных и бактериальных фитотоксинов, перспективных для создания новых БХГ: макроцидин А (Graupner et al., 2006), циннацидин (Irvine et al., 2008), альбуцидин (Hahn et al., 2009), мевалоцидин (Gerwick et al., 2013). Компания «Marrone BioInnovations» протестировала более 12 тыс. микроорганизмов и в настоящее время готова к внедрению трех гербицидных препаратов (<https://marronebio.com/marrone-bio-advances-novel-herbicides/#>). Сообщается об испытании более десяти препаратов на основе растительных экстрактов и эфирных масел, однако они широкого применения не получили (Hasan et al., 2021 a,b). Препарат, на основе тенуазоновой кислоты успешно испытан в полевых условиях против основных сорняков хлопчатника и табака (Zhou et al., 2019).

**Пути повышения эффективности.** Помимо недостаточной эффективности, в использовании БХГ есть и другие проблемы. Например, испытания природных соединений в тепличных и вегетационных условиях проводятся редко. Это связано с тем, что методы их получения и контроля качества недостаточно отработаны, а лабораторные эксперименты по оценке фитотоксичности, на основе которых часто делают заключение о гербицидном потенциале, не всегда коррелируют с обработкой растений *in vivo*. Нередко, для оценки фитотоксичности природных веществ используются методы, отличные от тех вышеописанных методик, которые применяются для биотестирования синтетических гербицидных соединений. Учитывая низкие выходы, масштабирование производства фитотоксинов на пилотном и промышленном уровне требует оптимизации условий ферментации, выбора лучшего штамма-продуцента, питательной среды и простого метода очистки с минимальным использованием органических растворителей. При работе с растительными метаболитами требуется организация плантаций растений-продуцентов и т.д. (Varejão et al., 2013; Cimmino et al., 2015). Несмотря на вышеизложенные трудности, в последнее время появляются примеры исследований по оптимизации получения

перспективных микробных метаболитов (например, такстомина А, радицинина, гербарумина I) (Berestetskiy et al., 2019; Wang et al., 2020; Masi et al., 2021). В то же время, по-прежнему, в открытых источниках имеется очень мало информации о стабильности и токсичности природных фитотоксинов и продуктов их деградации (Seger et al., 2005; Ahonsi et al., 2006; Trivella et al., 2010; Scheepmaker et al., 2019; Kiseleva et al., 2020).

Еще одна проблема, которую необходимо решить для эффективного применения биорациональных гербицидов – это подбор или разработка их препаративных форм (Cimmino et al., 2015; Bordin et al., 2020). Для первичной оценки эффективности природных гербицидов обычно испытывают простейшие составы. Опытный образец сорголеона, который был приготовлен в форме смачивающегося порошка с помощью распылительной суши, имел следующий состав: ДВ (4.9%), каолин (79.2%), диоксид кремния (9.2%) и прилипатель (монооктадециловый эфир полиоксиэтилена, 7.0%) (Uddin et al., 2013). Для применения фитотоксической культуральной жидкости гриба *Phoma* sp. была разработана эмульсия на основе Span-80, Tween-80 и пальмового масла (Toderò et al., 2018).

Биологическую активность фитотоксинов феосфериды А и стагонолиды А, образуемых соответственно грибами *Paraphoma* sp. и *Stagosnospora cirsii* Davis, существенно повысил адьювант Hasten™ (Victorian Chemicals, Coolaroo, Australia) на основе этиловых и метиловых эфиров растительного масла (Poluektova et al., 2018; Dubovik et al., 2020). В состав опытного образца гербицида на основе теназуоносовой кислоты для полевых испытаний входил 0.4% адьюванта на основе полиоксиэтиленового эфира жирных спиртов и лаурокарпама (1:3 по объему) (Zhou et al., 2019). Новая препаративная форма стриголактонов в виде концентрата эмульсии снижала всхожесть стриги (*Striga* spp.) на 89–99% в тепличных опытах и была эффективна и в полевых условиях (Jamil et al., 2022). Твердая препаративная форма культуральной жидкости *Diaporthe* sp. была получена при помощи распылительной суши с использованием адьюванта AgRho FKC, являющегося

активатором глифосата, и диоксида кремния в качестве наполнителя (de Almeida et al., 2020). Инкапсулированный в циклодекстрин инулоксин сохранил высокую активность в отношении заразики *P. ramosa* (Moeini et al., 2019). Успешно испытана биопленка на основе полибутиленсукцината, обеспечивающая постепенное высвобождение органического экстракта диттрихии клейкой (*Dittrichia viscosa* (L.) Greuter) (Serino et al., 2021). Период полураспада скополетина в гранулах органоглины (Cloisite® 10A) составил 20 суток, в отличие от его свободной формы, для которой период полураспада в полевых условиях был менее суток. Препарат, нагруженный этим фитотоксином, в полевых условиях проявил гербицидную активность при норме расхода 12 кг/га (Galán-Pérez et al., 2022).

Новым трендом в использовании природных соединений в защите растений может быть использование нанотехнологий (Kremer et al., 2019; Vurgo et al., 2019; Abdollahdokht et al., 2022). Так, получена фитотоксичная наноформа эфирного масла чабера душистого (*Satureja hortensis* L.) инкапсулированного в персидскую камедь, которая в дозировке 15 мл/л обеспечивала гибель щиряцы запрокинутой через 48 ч после обработки (Taban et al., 2020). Инкапсулированный в мезопористые наночастицы кремнезема офибоблин А проявил фитотоксичность для листьев различных растений только при их механическом повреждении (Vurgo et al., 2020). Наногубки на основе декстрина представляют собой полимеры с клеткообразной структурой, которые могут образовывать комплексы из нескольких молекул, действуя как носители или протекторы. Нагруженные фитотоксином аилантоном из *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle наногубки проявили пролонгированное на несколько недель гербицидное действие в модельных опытах (Demasi et al., 2021). Наноэмульсия на основе эфирного масла цитронеллы цейлонской (*Cymbopogon nardus* Rendle), содержащего 36% гераниола, 18% транс-цитраля и 15% цис-цитраля, оказывала значительный дозозависимый ингибирующий эффект на прорастание и рост проростков *E. crus-galli* (Somala et al., 2022).

### Природные фитотоксины как прототипы синтетических гербицидов

Как упоминалось выше, существуют различные подходы к формированию библиотек и последующему скринингу веществ с гербицидными свойствами. Для этого рационально использование природных фитотоксинов, поскольку значительная их доля соответствует физико-химическим предикторам гербицидных молекул и обладает оригинальными МД на растения (Oršolić et al., 2021; Duke et al., 2022). Так, природные соединения (ПС) могут быть использованы для виртуального и биологического скрининга ингибиторов известных ММ, обладая при этом новым структурным скелетом по сравнению с известными ХГ. К примеру, проведен виртуальный скрининг 14 природных фитотоксинов на связывание с белком D1 (psbA) фотосистемы II трех видов сорных растений (*Eleusine indica* (L.) Gaertn., *Praxelis clematidea* (Hieron. ex Kuntze) R.M.King & H.Rob., and *Momordica charantia* L.) с помощью программы PyRx v.0.9.5. В результате аурахин А и аурахин Р, а также цианобактерин были помещены в топ-рейтинг соединений с высоким показателем афинности к указанной ММ. Связывание белка D1 с фитотоксинами

определялось взаимодействием с определенными аминокислотными остатками, причем набор участвующих в связывании аминокислот оказался на 50–90% аналогичен для его комплекса с эталонным гербицидом диуроном (Permatasari et al., 2021). Разработан сложноступенчатый виртуальный скрининг ингибиторов 5-енолпирувилшкима-3-фосфатсинтазы (ЕПШФС) – ММ глифосата. Для этого из различных источников была собрана библиотека гербицид-подобных природных соединений путем моделирования их взаимодействия с указанным ферментом из *E. indica*. Одно из прошедших сито отбора соединений показало стабильную конформацию в комплексе с ЕПШФС и высокую аффинность к нему, не обладая при этом структурным сходством с глифосатом (de Oliveira et al., 2022). Кристаллическая структура новых ММ природных фитотоксинов может быть использована для скрининга химических библиотек и выявления более подходящих по строению, активности и токсичности соединений. В настоящее время известно более 40 ММ для различных природных

веществ, однако эта стратегия пока не используется (Duke et al., 2022).

ПС, их полусинтетические производные и аналоги природных соединений составляют 17% соединений (из 800 проанализированных), используемых для защиты растений. Они были постоянным источником новых агрохимикатов в течение последних 70 лет. Отдельно можно отметить существование синтетических эквивалентов природных соединений – синтетических действующих веществ, в структуру которых входит фрагмент ПС. С их учетом доля пестицидов, которые гипотетически имеют природное происхождение, вырастает до 50%. Аналогичные тенденции также справедливы для оценки роли ПС в выявлении новых МД пестицидов и оригинальных химических структур для их разработки (Sparks, Bryant, 2021). Например, некоторые современные гербициды, ингибирующие ГФПД (мезотрион, сулкотрион, темботрион и др.) – аналоги природных соединений из группы трикетонов, характерных для различных растений семейства Миртовые (Duke et al., 2022). Такие хорошо известные ауксин-подобные гербициды, как клопиралид и аминопиралид, являются синтетическими эквивалентами производных пиколиновой кислоты, которую образуют почвенные и фитопатогенные грибы, такие как *Aspergillus* spp. и *Pyricularia oryzae* Cav. (Aucique-Pérez et al., 2019). Глюфосинат (фосфинотрицин) – синтетический аналог упоминавшегося выше бактериального метаболита биалафоса, который метаболизируется в растениях до фитотоксичного фосфинотрицина (Takano, Dayan, 2020).

Полный синтез природных фитотоксинов и, в частности, энантиоселективный синтез мог бы представлять собой путь для создания перспективных библиотек гербицидных соединений. Однако ПС как правило имеют достаточно сложную структуру с несколькими стереогенными центрами, что затрудняет их получение синтетическими методами в промышленном масштабе с высокими выходами и с использованием экологически чистых реагентов. Частично это проблему можно решить путем поиска и синтеза упрощенных аналогов ПС (Sparks, Duke, 2021). Например, получены упрощенные активные аналоги грибных фитотоксинов филлостиктина А (Riemer et al., 2018), офибололина А (Tao et al., 2020), макроцидинов А и Z (Treiber et al., 2021).

При рассмотрении структурных особенностей некоторых фитотоксинов (рисунок 1) и недавно внедренных гербицидов несложно заметить ряд их структурных различий (рисунок 2). В связи с этим, для повышения стабильности и эффективности некоторых природных фитотоксинов стоит рассмотреть возможности их структурной модификации в соответствии с физико-химическими предикторами гербицидов (Gandy et al., 2015; Zhang et al., 2018; Takano et al., 2019; Krähmer et al., 2021; Sukhoverkov et al., 2021). Например, более 25% известных гербицидов содержит в своем составе атомы фтора, либо трифторметильные группы (Fujiwara, O’Hagana, 2014; Ogawa et al., 2020).

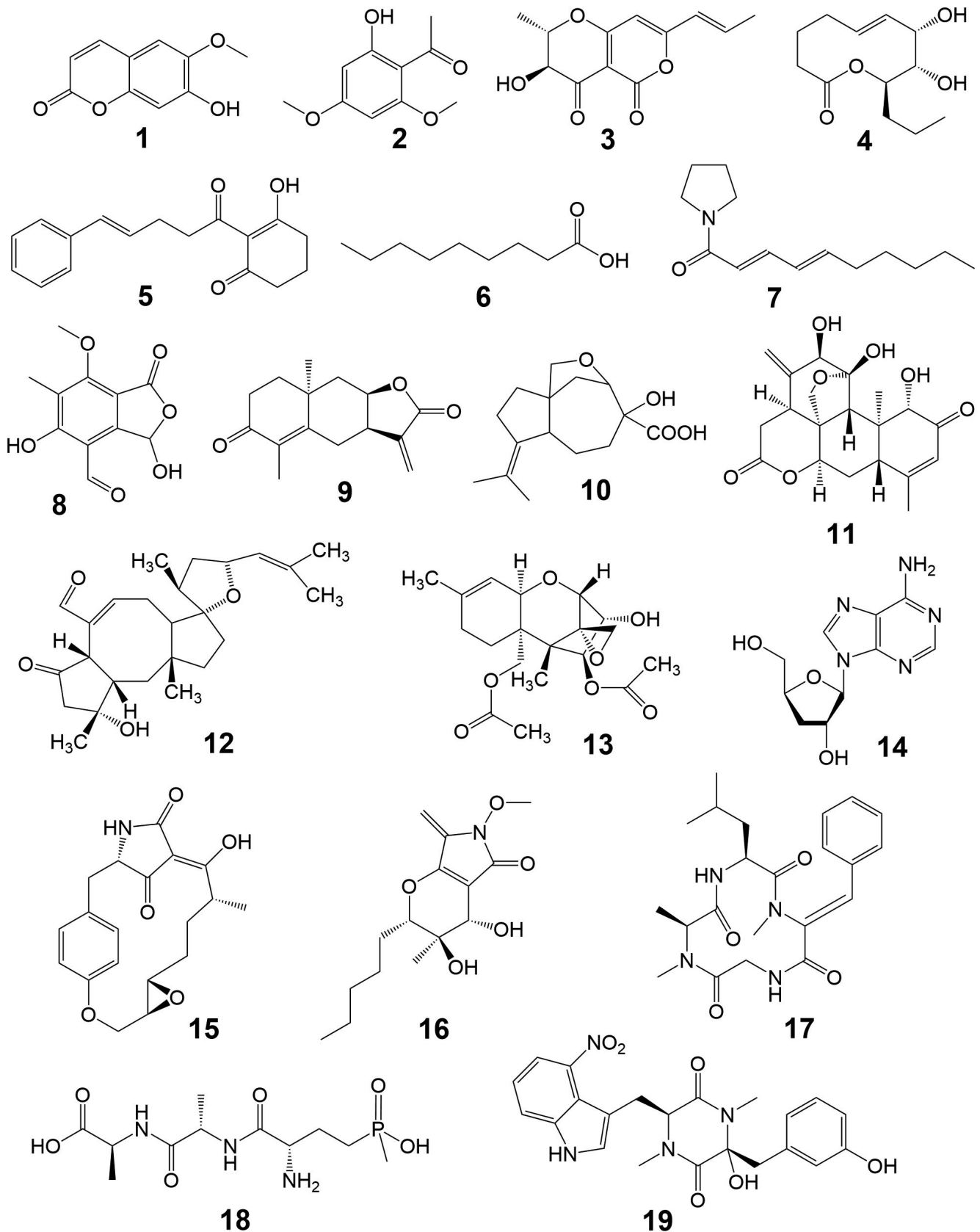
Новых гербицидов путем простой модификации ПС пока не создано. Однако, эта стратегия оказалась эффективной, например, при разработке полусинтетического инсектицида Инскалис на основе пирепиропена А, образуемого некоторыми почвенными грибами, вместе с биотехнологией его получения (Koradin et al., 2021).

На первом этапе дизайна и синтеза производных ПС большое значение имеет установление активных центров в их структуре. Это можно достичь путем анализа связи между структурой и биологической активностью (АССА) исходных ПС, их природных и простейших полусинтетических производных (Clark, 2012; Wang et al., 2021). АССА позволяет найти подходы к синтезу эквивалентов и упрощенных аналогов ПС, а также так называемых псевдоприродных соединений (Truax, Romo, 2020; Karageorgis et al., 2021; Sparks, Duke, 2021). В последнее время появилось большое число работ по изучению полусинтетических производных растительных метаболитов в качестве потенциальных ХГ с использованием АССА, например: маслиновой кислоты (Ben Nejma et al., 2018), 2,4,5-триметоксибензальдегида (Rodrigues et al., 2020), кумарина (Zhao et al., 2021), берберина (Zhang et al., 2021). Однако работ по АССА микробных фитотоксинов еще сравнительно немного. В крупном обзоре Cimmino с соавт. (2015) рассмотрено лишь шесть фитотоксинов, для которых проводились первичные работы по взаимосвязи структуры и фитотоксической активности – хеноподолины, ноненолиды, цитохалазины, папирацилловая кислота, агропиренал. Недавно опубликованы работы по АССА производных радицинина (Masi et al., 2019), пиколиновой кислоты (Yang et al., 2021), фумонизина (Renaud et al., 2021) и 10-членных лактонов (Dalinova et al., 2021).

После изучения реакционной способности исходного ПС и выявления полусинтетических соединений-лидеров может проводиться дальнейший синтез их производных с ориентацией на физико-химические дескрипторы гербицидов с использованием типичных токсифоров или показавших эффективность структурных фрагментов ХГ. Отбор перспективных молекул может быть подтвержден молекулярным докинггом, если их потенциальная ММ известна.

Серия производных 3-ацил-5-алкилтетрамовой кислоты была сгенерирована в имитационной модели молекулярного взаимодействия между теназуновой кислотой (ТеК) и целевым белком D1 арабидопсиса с помощью компьютерного дизайна. Затем каждое производное, характеризующееся высокой аффинностью, подвергали молекулярному докингу с белком D1 для вычисления свободной энергии связывания. Три отобранных производных ТеК – D6 (sec-пентил-ТеК), D13 (sec-гексил-ТЕК) и D27 (sec-гептил-ТеК) – были синтезированы для проведения биотестирования. Из них D6 и D13 проявили более высокую гербицидную активность, чем ТеК (Wang et al., 2022).

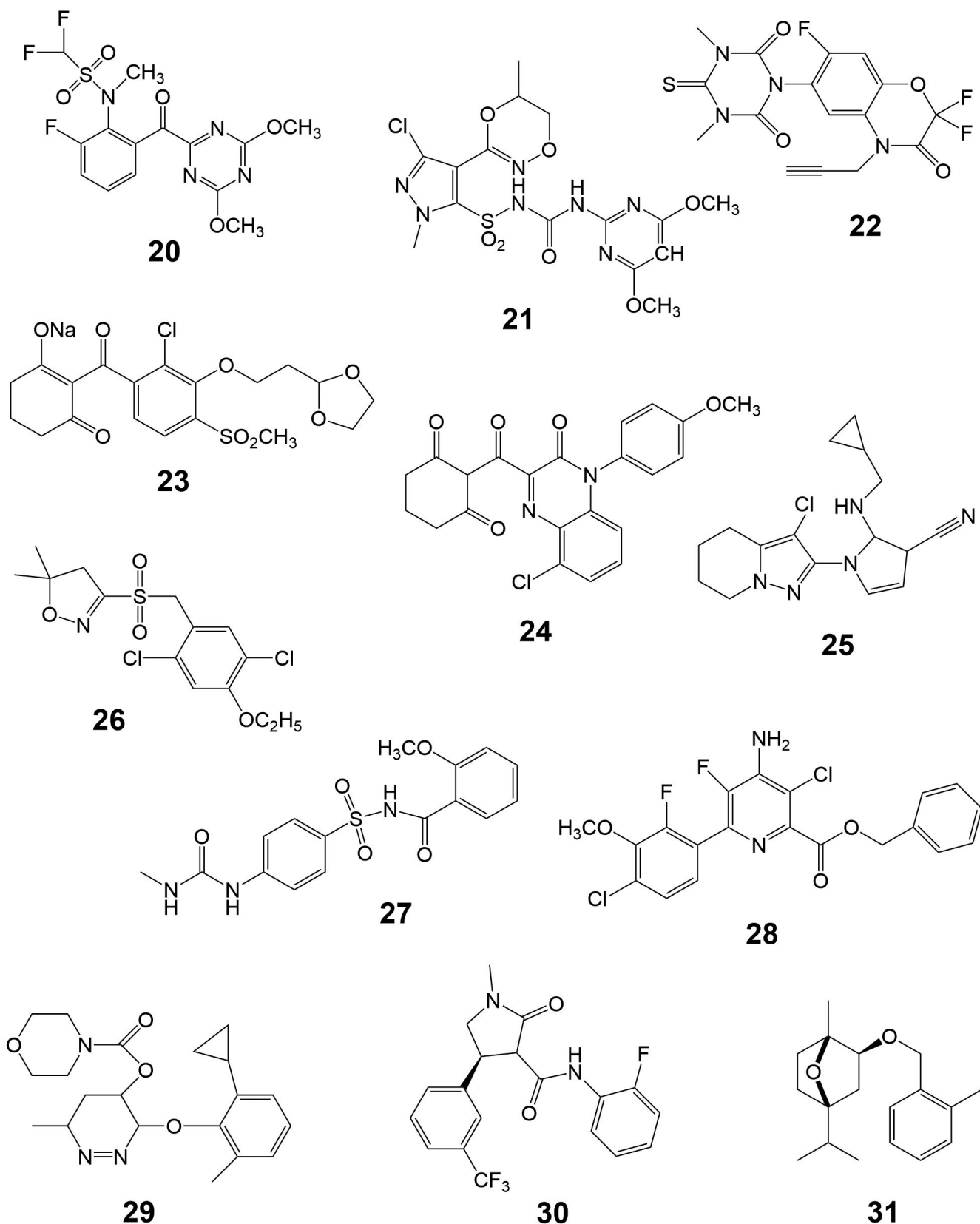
Виды растений рода *Peperomia* продуцируют широкий спектр вторичных метаболитов, в частности, они являются важными природными источниками 2-ацилциклогексан-1,3-диононов (например, алатанона А, тринейрона А и др.), структурно сходных с лептоспермоном и коммерческими трикетоновыми гербицидами, такими как сулкотрион. Проведен синтез 76 аналогов 2-ацилциклогексан-1,3-дионона, которые были протестированы на ингибирование 4-гидроксибензилпируватдиоксигеназы (ГФПД). Полученный набор данных был впоследствии проанализирован с использованием трехмерного количественного АССА для характеристики ключевых структурных особенностей, которые способствуют ингибированию активности ГФПД. Это позволило выявить



**Рисунок 1.** Структуры фитотоксинов, упомянутых в тексте: 1 – скополетин, 2 – ксантоксилин, 3 – радицинин, 4 – гербарумин I, 5 – алатанон А, 6 – пеларгоновая кислота, 7 – сарментин, 8 – циклопальдиевая кислота, 9 – инулоксин, 10 – асптерровая кислота, 11 – аилантон, 12 – офиоболин А, 13 – диацетоксисерпенол, 14 – кордицепин, 15 – макроцидин А, 16 – феосферид А, 17 – тентоксин, 18 – биалафос, 19 – такстомин А

**Figure 1.** Structures of phytotoxins mentioned in the text: 1 – scopoletin, 2 – xanthoxyline, 3 – radicinin, 4 – herbarumin I, 5 – alatanone A, 6 – pelargononic acid, 7 – sarmentine, 8 – cyclopaldic acid, 9 – inuloxin, 10 – aspterric acid, 11 – ailanthone, 12 – ophiobolin A, 13 – diacetoxyscerpenol, 14 – cordycepin, 15 – macrocidin A, 16 – phaeosphaeride A, 17 – tentoxin, 18 – bialaphos, 19 – thaxtomine A





**Рисунок 2.** Примеры некоторых химических гербицидов, зарегистрированных в различных странах мира с 2015 г. (Umetsu, Shirai, 2020): **1** – Триафамон, **2** – Метазосульфурон, **3** – Трифлудимоксацин, **4** – Ланкотрион-натрий, **5** – Фенквинотрион, **6** – Циклопиранил, **7** – Феноксасульфен, **8** – Флопирауксифен-метил, **9** – Меткамифен, **10** – Циклопириморат, **11** – Тетфлупиролимет, **12** – Цинметилин

**Figure 2.** Examples of some chemical herbicides registered in different countries since 2015 (Umetsu, Shirai, 2020): **1** – Triafamone, **2** – Metazosulfurone, **3** – Трифлудимоксацин, **4** – Lancotriion-sodium, **5** – Fenquinotriion, **6** – Cyclopyranil, **7** – Fenoxasulfone, **8** – Flopyrauxifen-methyl, **9** – Metcamifen, **10** – Cyclopyrimorate, **11** – Tetflupyrolimet, **12** – Cynmethylin

2-ацилциклогексан-1,3-дион с боковой C11 алкильной цепью, демонстрирующий более высокую гербицидную активность, чем сулькотрион (Ooka et al., 2022).

Ксантоксилин – небольшой природный метилкетон из растения *Zanthoxylum limonella* (Dennst.) Alston, является ингибитором роста растений. В исследовании Chotpatiwetchkul et al. (2022) родственные ему метилкетоны, несущие электрон-донорные и -акцепторные группы или гетероциклические заместители, были исследованы в качестве ингибиторов прорастания семян и роста проростков *Amaranthus tricolor* L. и *E. crus-galli*. На основе АССА были установлены типы и положения заместителей, которые имеют решающее значение для активности метилкетонных гербицидных веществ. Было обнаружено, что производные индола, а именно 3-ацетилиндол и 3-ацетил-7-азаиндол, являются наиболее активными метилкетонами, которые сильно подавляют рост растений

при низких концентрациях. Молекулярный докинг показал, что карбонильное, ароматическое и азаиндолное взаимодействия являются ключевыми для ингибирования ГФПД (Chotpatiwetchkul et al., 2022).

Ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А редуктазы (ГМГКоАР), например, статины, обладают гербицидными свойствами, поэтому этот фермент, катализирующий синтез мевалоновой кислоты, может представлять собой ММ для разработки ХГ. После установления кристаллической структуры ГМГКоАР арабидопсиса (AtHMG1) проведен скрининг статинов и их полусинтетических производных. Одно из проявивших гербицидную активность производных аторвастатина в 20 раз сильнее ингибировало AtHMG1, чем активность аналогичного фермента человека HsHMGCR, представляя собой соединение-лидер для будущей разработки специфичных для растений ингибиторов ГМГКоАР (Haywood et al., 2022).

### Заключение

Анализ литературы показал, что прогресс в использовании природных соединений для борьбы с сорными растениями следует за достижениями в исследовании синтетических гербицидов. Виртуальный скрининг гербицид-подобных природных фитотоксинов и их биотестирование с помощью принятых при скрининге гербицидных молекул методик должны повысить эффективность отбора перспективных соединений. Биотехнологическая оптимизация получения и тщательная токсикологическая характеристика сделают немодифицированные природные соединения более привлекательными для практики. Разработка стабильных препаративных форм фитотоксинов, обеспечивающих улучшенное проникновение в листья и контролируемое высвобождение в почве, позволит снизить нормы их внесения и возможные экологические риски. Установление механизмов действия фитотоксинов на растения станут научной основой для подбора

синергетических смесей природных и синтетических гербицидов. Кристаллические структуры молекулярных мишеней, на которые действуют природные фитотоксины, могут быть использованы для виртуального скрининга более эффективных синтетических ингибиторов из существующих химических библиотек методом молекулярного докинга. Компьютерный дизайн полусинтетических производных или синтетических аналогов фитотоксинов с использованием специфичных для известных гербицидов структурных фрагментов и физико-химических правил вместе с последующим анализом взаимосвязи структуры и биологической активности позволяет вести более сфокусированный синтез перспективных молекул. Все перечисленные подходы должны ускорить появление новых гербицидов, столь востребованных как в органическом, так и в традиционном сельском хозяйстве.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 22-16-00038).

### Библиографический список (References)

- Говоров ДН, Живых АВ, Шабельникова АА (2021) Применение пестицидов. Год 2020-й. *Защита и карантин растений* 6:3–4. [https://doi.org/10.47528/1026-8634\\_2021\\_6\\_3](https://doi.org/10.47528/1026-8634_2021_6_3)
- Захарычев ВВ (2021) Химия гербицидов: учебное пособие для вузов. СПб: Лань. 592 с.
- Колупаев МВ (2021) Резистентность сорняков к гербицидам нарастает. *Защита и карантин растений* 4:15–16
- Михайликова ВВ, Стребкова НС, Пустовалова ЕА (2020) Действующие вещества – основа химической защиты растений. *Агрехимия* 5:44–46. <https://doi.org/10.31857/S0002188120050105>
- Петровская О, Барановский С, Демиденко А, Волова Т (2022) Действие депонированных гербицидных препаратов на зерновые культуры. *Вестник российской сельскохозяйственной науки* 1:47–51. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2022/1/47-51>
- Спиридонов ЮЯ, Жемчужин СГ, Клейменова ИЮ, Босак ГС (2019) Современное состояние проблемы изучения и применения гербицидов (дайджест публикаций за 2014–2017 гг.). *Агрехимия* 6:81–91. <https://doi.org/10.1134/S0002188119060103>
- Спиридонов ЮЯ, Жемчужин СГ, Королева ЛМ, Босак ГС (2021) Современное состояние проблемы изучения и применения гербицидов (дайджест публикаций за 2017–2019 гг.). *Агрехимия* 3:88–96. <https://doi.org/10.31857/S0002188121030121>
- Шпанев АМ (2016) Вредоносность сорных растений в посевах яровой пшеницы на Северо-западе Нечерноземья. *Земледелие* 2:42–45
- Шпанев АМ (2013) Вредоносность сорных растений на юго-востоке ЦЧЗ. *Земледелие* 3:34–37
- Abdollahdokht D, Gao Y, Faramarz S. et al. (2022) Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview on recent advances. *Chem Biol Technol Agric* 9(13):1–19. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00281-0>
- Abdullah HSTSH, Chia PW, Omar D, Chuah TS (2021) Herbicidal properties of antihypertensive drugs: calcium channel blockers. *Sci Rep* 11(1):1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93662-2>
- Ahonsi MO, Boss D, Maurhofer M, Défago G (2006) Potential environmental fate of elsinochrome A, a perylenequinone toxin produced in culture by bindweed biocontrol fungus

- Stagonospora convolvuli* LA39. *The Environmentalist* 26(3):183–193. <https://doi.org/10.1007/s10669-006-7830-0>
- Albuquerque FPD, Preisler AC, Fraceto LF, Oliveira HC, de Castro VLS (2020) Overview of nanopesticide environmental safety aspects and regulatory issues: the case of nanoatrazine. *Nanopesticides*. Springer Cham. 281–298.
- Alfred SE., Surendra A, Le C et al. (2012) A phenotypic screening platform to identify small molecule modulators of *Chlamydomonas reinhardtii* growth, motility and photosynthesis. *Genome Biol* 13:105. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-11-r105>
- Aliferis KA, Chrysayi-Tokousbalides M (2006) Metabonomic strategy for the investigation of the mode of action of the phytotoxin (5s,8r,13s,16r)-(–)-pyrenophorol using <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance fingerprinting. *J Agric Food Chem* 54(5):1687–1692. <https://doi.org/10.1021/jf0527798>
- Aliferis KA, Chrysayi-Tokousbalides M (2011) Metabolomics in pesticide research and development: review and future perspectives. *Metabolomics* 7(1):35–53. <https://doi.org/10.1007/s11306-010-0231-x>
- Anteyi WO, Klaiber I, Rasche F. (2022) Diacetoxyscirpenol, a *Fusarium* exometabolite, prevents efficiently the incidence of the parasitic weed *Striga hermonthica*. *BMC Plant Biol* 22(1):84. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03471-6>
- Artusio F, Casà D, Granetto M, Tosco T, Pisano R (2021) Alginate nanohydrogels as a biocompatible platform for the controlled release of a hydrophilic herbicide. *Processes* 9:1641. <https://doi.org/10.3390/pr9091641>
- Aucique-Pérez CE, Resende RS, Cruz Neto LB, Dornelas F, DaMatta FM et al. (2019) Picolinic acid spray stimulates the antioxidative metabolism and minimizes impairments on photosynthesis on wheat leaves infected by *Pyricularia oryzae*. *Physiol Plant* 167(4):628–644. <https://doi.org/10.1111/ppl.12917>
- Belz RG, Hurle KA (2004) Novel laboratory screening bioassay for crop seedling allelopathy. *J Chem Ecol* 30:175–198. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000013190.72062.3d>
- Ben Nejma A, Znati M, Daich A, Othman M, Lawson AM et al. (2018) Design and semisynthesis of new herbicide as 1,2,3-triazole derivatives of the natural maslinic acid. *Steroids* 138:102–107. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2018.07.004>
- Berestetskiy AO, Poluektova EV, Sabashuk YA, Pervushin AL (2019) Development of chromatography techniques for analysis and preparative isolation of phytotoxic metabolites produced by *Stagonospora cirsi*. *Appl Biochem Microbiol* 55:684–690. <https://doi.org/10.1134/S000368381906005X>
- Bettli C, De Vettori S, Minervini G, Zuccon E, Marchetto D et al. (2015) Assessment of phenolic herbicide toxicity and mode of action by different assays. *Environ Sci Pollut Res* 23(8):7398–7408. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5958-5>
- Bo AB, Won OJ, Sin HT, Lee JJ, Park KW (2017) Mechanisms of herbicide resistance in weeds. *Korean J Agric Sci* 44:001–015. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20170001>
- Bordin ER, Frumi Camargo A, Stefanski FS, Scapini T, Bonatto C et al. (2020) Current production of bioherbicides: mechanisms of action and technical and scientific challenges to improve food and environmental security. *Biocatal Biotransfor* 39(5):346–359. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1833864>
- Bunting JA, Sprague CL, Riechers DE (2004) Proper adjuvant selection for foramsulfuron activity. *Crop Prot* 23(4):361–366. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.08.022>
- Cabrera-Pérez C, Royo-Esnal A, Recasens J (2022) Herbicidal effect of different alternative compounds to control *Conyza bonariensis* in vineyards. *Agronomy* 12(4):960. <https://doi.org/10.3390/agronomy12040960>
- Campe R, Hollenbach E, Kämmerer L, Hendriks J, Höffken Hwet al (2018) A new herbicidal site of action: Cinmethylin binds to acyl-ACP thioesterase and inhibits plant fatty acid biosynthesis. *Pest Biochem Physiol* 148:116–125. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.04.006>
- Campos EVR, de Oliveira JL, Fraceto LF, Singh B (2014) Polysaccharides as safer release systems for agrochemicals. *Agron Sust Dev* 35(1):47–66. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0263-0>
- Cao L, Liu Y, Xu C, Zhou Z, Zhao P et al. (2019) Biodegradable poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) microcapsules for controlled release of trifluralin with improved photostability and herbicidal activity. *Mater Sci Eng* 102:134–141
- Chaib S, Pistevos JCA, Bertrand C, Bonnard I (2021) Allelopathy and allelochemicals from microalgae: An innovative source for bio-herbicidal compounds and biocontrol research. *Algal Res* 54:102213. doi: 10.1016/j.algal.2021.102213
- Chaud M, Souto EB, Zielinska A, Severino P, Batain F et al. (2021) Nanopesticides in agriculture: benefits and challenge in agricultural productivity, toxicological risks to human health and environment. *Toxics* 9(6): 131. <https://doi.org/10.3390/toxics9060131>
- Chauhan BS (2020) Grand challenges in weed management. *Front Agron* 1(3):1–4. <https://doi.org/10.3389/fagro.2019.00003>
- Chen D, Hao G, Song B (2022) Finding the missing property concepts in pesticide-likeness. *J Agric Food Chem* 70(33):10090–10099. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c02757>
- Chen S, Qiang S (2017) Recent advances in tenuazonic acid as a potential herbicide. *Pestic Biochem Physiol* (143):252–257. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.01.003>
- Chiddarwar RK, Rohrer SG, Wolf A, Tresch S, Wollenhaupt S et al. (2017) In silico target prediction for elucidating the mode of action of herbicides including prospective validation. *J Mol Graph and Model* (71): 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.jmkgm.2016.10.021>
- Chotpatiwetchkul W, Chotsaeng N, Laosinwattana C, Charoenying P (2022) Structure-activity relationship study of xanthoxyline and related small methyl ketone herbicides. *ACS Omega* 7(33):29002–29012. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c02704>
- Cimmino A, Masi M, Evidente M, Superchi S, Evidente A (2015) Fungal phytotoxins with potential herbicidal activity: chemical and biological characterization. *Nat Prod Rep* 32(12):1629–1653. <https://doi.org/10.1039/c5np00081e>
- Clark RDA (2012) Perspective on the role of quantitative structure-activity and structure-property relationships in herbicide discovery. *Pest Manag Sci* 68(4):513–518. <https://doi.org/10.1002/ps.3256>

- Clark RD (2018) Predicting mammalian metabolism and toxicity of pesticides in silico. *Pest Manag Sci* 74(9): 1992–2003. <https://doi.org/10.1002/ps.4935>
- Cobb AH, Reade JPH (2010) *Herbicides and plant physiology*. Oxford: Wiley-Blackwell. 298 p.
- Comont D, Claudia L, Hull R, Crook L, Helen LH et al. (2020) Evolution of generalist resistance to herbicide mixtures reveals a trade-off in resistance management. *Nat Commun* 11(1): 3086. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16896-0>
- Cordeau S, Triolet M, Wayman S, Steinberg C, Guillemain J (2016) Bioherbicides: dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management. *Crop Prot* 87: 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.cropro>
- Da Cruz-Silva CT, Cantrell CL, Nobrega LP, Ali A, Duke S (2021) Bioassay-guided isolation of phytotoxins from three salvia species. *Allelopathy J* 54(1):13–24. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2021-54-1-1344>
- Dalinova A, Fedorov A, Dubovik V, Voitsekhovskaja O, Tyutereva et al. (2021) Structure–activity relationship of phytotoxic natural 10-membered lactones and their semisynthetic derivatives. *J. Fungi* 7(10):829. <https://doi.org/10.3390/jof7100829>
- Dayan FE (2019) Current Status and Future Prospects in Herbicide Discovery. *Plants* 8(9):341. <https://doi.org/10.3390/plants8090341>
- Dayan FE, Duke SO (2020) Discovery for new herbicide sites of action by quantification of plant primary metabolite and enzyme pools. *Engineering* 6(5):509–514. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.03.004>
- Dayan FE, Romagni JG, Duke SO (2000) Investigating the mode of action of natural phytotoxins. *J Chem Ecol* 26(9):2079–2094. doi: 10.1023/a:1005512331061
- Dayan FE, Owens DK, Watson SB, Asolkar RN, Boddy LG (2015) Sarmentine, a natural herbicide from Piper species with multiple herbicide mechanisms of action. *Front Plant Sci* 6:222. doi: 10.3389/fpls.2015.00222
- de Almeida TC, Spannemberg SS, Brun T, Schmaltz S, Escobar O et al. (2020) Development of a solid bioherbicide formulation by spray drying technology. *Agriculture* 10(6):215. <https://doi.org/10.3390/agriculture10060215>
- de Oliveira MVD, Fernandes GMB, da Costa KS, Vakal S, Lima AH (2022) Virtual screening of natural products against 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase using the Anagreen herbicide-like natural compound library. *RSC Adv* 12: 18834–18847. <https://doi.org/10.1039/D2RA02645G>
- De Souza Barros VM, Pedrosa JLF, Gonçalves DR, de Medeiros FCL, Carvalho GR et al. (2021) Herbicides of biological origin: a review. *J Hort Sci Biotechn* 96(3):288–296. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1846465>
- Demasi S, Caser M, Caldera F, Kumar Dhakar N, Vidotto F et al. (2021) Functionalized dextrin-based nanosponges as effective carriers for the herbicide ailanthon. *Ind Crops Prod* 164:113346. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113346>
- Deng C, Shao H, Pan X, Wang S, Zhang D (2014). Herbicidal effects of harmaline from *Peganum harmala* on photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*: probed by chlorophyll fluorescence and thermoluminescence. *Pestic Biochem Physiol* 115:23–31. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.08.002>
- Dubovik V, Dalinova A, Berestetskiy A (2020) Effect of adjuvants on herbicidal activity and selectivity of three phytotoxins produced by the fungus, *Stagonospora cirsi*. *Plants* 9(11):1621. <https://doi.org/10.3390/plants9111621>
- Duke SO, Bajsa J, Pan Z (2013) Omics methods for probing the mode of action of natural and synthetic phytotoxins. *J Chem Ecol* 39(2):333–347. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0240-0>
- Duke SO, Dayan FE (2015) Discovery of new herbicide modes of action with natural phytotoxins. In: *Discovery and Synthesis of Crop Protection Products*. Maienfisch P, Stevenson TM, Eds. ACS Symposium Series, ACS: Washington, DC 7:79–92. <https://doi.org/10.1021/bk-2015-1204.ch007>
- Duke SO, Dayan FE (2015) Discovery of new herbicide modes of action with natural phytotoxins. *Discovery and synthesis of crop protection products*. In: *Discovery and Synthesis of Crop Protection Products*. Maienfisch P, Stevenson TM, Eds. ACS Symposium Series, ACS: Washington, DC. 7:79–92. <https://doi.org/10.1021/bk-2015-1204.ch007>
- Duke SO, Dayan FE (2011) Modes of action of microbially-produced phytotoxins. *Toxins* 3(8):1038–1064. <https://doi.org/10.3390/toxins3081038>
- Duke SO, Evidente A, Fiore M, Rimando AM, Dayan FE et al. (2011) Effects of the aglycone of ascaulitoxin on amino acid metabolism in *Lemna paucicostata* *Pestic Biochem Phys* 100(1):41–50. doi:10.1016/j.pestbp
- Duke SO, Stidham MA, Dayan FE (2018) A novel genomic approach to herbicide and herbicide mode of action discovery. *Pest Manag Sci* 75(2):314–317. <https://doi.org/10.1002/ps.5228>
- Duke SO, Dayan FE (2022) The search for new herbicide mechanisms of action: Is there a ‘holy grail’? *Pest Manag Sci* 78(4):1303–1313. <https://doi.org/10.1002/ps.6726>
- Duke SO, Pan Z, Bajsa-Hirschel J (2020) Proving the mode of action of phytotoxic phytochemicals. *Plants* 9(12):1756. <https://doi.org/10.3390/plants9121756>
- Durán AG, Benito J, Macías FA, Simonet AM (2021) agave steroidal saponins as potential bioherbicides. *Agronomy* 11(12):2404. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122404>
- Epp JB, Alexander AL, Balko TW, Buysse AM, Brewster WK (2016) The discovery of Arylex™ active and Rinskor™ active: Two novel auxin herbicides. *Bioorg Med Chem* 24(3):362–371. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.08.011>
- Filimonov D, Druzhilovskiy D, Lagunin A, Glorizova T, Rudik, A et al. (2018) Computer-aided prediction of biological activity spectra for chemical compounds: opportunities and limitations. *Biomed Chem Res Methods* 1(1): 4. <https://doi.org/10.18097/bmcr00004>
- Flieller G, Riffault-Valois L, Bergaentzlé M, Ennahar S (2022) Fast and reproducible 96-well plate-based method for the evaluation of the antigerminative potential of plant extracts and phytotoxic compounds. *J Agric Food Chem* 70(25):7842–7850. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c0>
- Forini MML, Pontes MS, Antunes DR, de Lima PHC, Santos JS (2022) Nano-enabled weed management in agriculture: From strategic design to enhanced herbicidal activity. *Plant Nano Biology* 1:100008. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2022.100008>
- Fu Y-X, Zhang Z-YZ, Guo W-Y, Dai Y-J, Wang Z-Y et al. (2022) In vivo fluorescent screening for HPPD-targeted herbicide discovery. *Pest Manag Sci* 78(11):4947–4955. <https://doi.org/10.1002/ps.7117>

- Fujiwara T, O'Hagan D (2014) Successful fluorine-containing herbicide agrochemicals. *J Fluor Chem* 167:16–29. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2014.06.014>
- Gaines TA, Busi R, Küpper A. (2021) Can new herbicide discovery allow weed management to outpace resistance evolution? *Pest Manag Sci* 77(7):3036–3041. <https://doi.org/10.1002/ps.6457>
- Gandy MN, Corral MG, Mylne JS, Stubbs KA (2015) An interactive database to explore herbicide physicochemical properties. *Org Biomol Chem* 13(20):5586–5590. <https://doi.org/10.1039/c5ob00469a>
- Gao Y, Liu W, Wang X, Yang L, Han S et al. S (2018) Comparative phytotoxicity of usnic acid, salicylic acid, cinnamic acid and benzoic acid on photosynthetic apparatus of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol Biochem* 128:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.037>
- Gayathiri E, Prakash P, Karmegam N, Varjani S, Awasthi MK et al. (2022) Biosurfactants: potential and eco-friendly material for sustainable agriculture and environmental safety—a review. *Agronomy* 12: 662. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030662>
- Gerwick BC, Brewster WK, deBoer GJ, Fields SC, Graupner PR et al. (2013) Mevalocidin: a novel, phloem mobile phytotoxin from *Fusarium* DA056446 and *Rosellinia* DA092917. *J Chem Ecol* (39): 253–261. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0238-7>
- Graupner PR, Gerwick BC, Siddall TL, Carr AW, Clancy E et al. (2006) Chlorosis inducing phytotoxic metabolites: new herbicides from *Phoma macrostoma*. In: Rimando AM, Duke SO (eds) Natural Products for Pest Management. ACS Symposium Series, ACS: Washington, DC, USA. 3:37–47. <https://doi.org/10.1021/bk-2006-0927.ch003>
- Green JM, Foy CL (2004) Adjuvants In: Inderjit (eds) Weed Biology and Management. Springer Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-0552-3\\_19](https://doi.org/10.1007/978-94-017-0552-3_19)
- Gressel J (2020) Perspective: present pesticide discovery paradigms promote the evolution of resistance – learn from nature and prioritize multi-target site inhibitor design. *Pest Manag Sci* 76(2):421–425. <https://doi.org/10.1002/ps.5649>
- Grossmann K (2005) What it takes to get a herbicide's mode of action. Physionomics, a classical approach in a new complexion. *Pest Manag Sci* 61(5):423–431. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823674-1.00008-010.1002/ps.1016>
- Grossmann K, Christiansen N, Looser R, Tresch S, Hutzler J et al. (2012) Physionomics and metabolomics—two key approaches in herbicidal mode of action discovery. *Pest Manag Sci* 68(4):494–504. <https://doi.org/10.1002/ps.2300>
- Guan A, Liu C, Yang X, Dekeyser M (2014) Application of the intermediate derivatization approach in agrochemical discovery. *Chem Rev* 114(14):7079–7107. <https://doi.org/10.1021/cr4005605>
- Guo Y, Cheng J, Lu Y, Wang H, Gao Y et al. (2020) Novel action targets of natural product gliotoxin in photosynthetic apparatus. *Front Plant Sci* 10:1688. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01688>
- Guo Y, Liu W, Wang H, Wang X, Qiang S et al. (2021) Action mode of the mycotoxin patulin as a novel natural Photosystem II inhibitor. *J Agric Food Chem* 69(26):7313–7323. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01811>
- Hachisu S (2021) Strategies for discovering resistance-breaking, safe and sustainable commercial herbicides with novel modes of action and chemotypes. *Pest Manag Sci* 77(7): 3042–3048. <https://doi.org/10.1002/ps.6397>
- Hahn DR, Graupner PR, Chapin E, Gray J, Heim D (2009) Albucidin: a novel bleaching herbicide from *Streptomyces albus* subsp. *chlorinus* NRRL B-24108. *J Antibiot* 62(4):191–194. <https://doi.org/10.1038/ja.2009.11>
- Hasan M, Ahmad-Hamdani MS, Rosli AM, Hamdan H (2021) Bioherbicides: an eco-friendly tool for sustainable weed management. *Plants* 10(6):1212. <https://doi.org/10.3390/plants10061212>
- Hasan M, Mokhtar AS, Rosli AM, Hamdan H, Motmainna M et al. (2021 b) Weed control efficacy and crop-weed selectivity of a new bioherbicide WeedLock. *Agronomy* 11(8):1488. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081488>
- Haywood J, Vadlamani G, Stubbs KA, Mylne JS (2021) Antibiotic resistance lessons for the herbicide resistance crisis. *Pest Manag Sci* 77(9):3807–3814. <https://doi.org/10.1002/ps.6357>
- Haywood J, Breese KJ, Zhang J et al. (2022) A fungal tolerance trait and selective inhibitors proffer HMG-CoA reductase as a herbicide mode-of-action. *Nat Commun* (13):5563. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33185-0>
- Haywood J, Breese KJ, Zhang J et al. (2022) A fungal tolerance trait and selective inhibitors proffer HMG-CoA reductase as a herbicide mode-of-action. *Nat Commun* (13):5563. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33185-0>
- Herrera R, Weimer MR, Morell M, Havens PL, Meregalli G et al (2021) Rinskor active herbicide—A new environment-friendly tool for weed management in rice and aquatic environments. In: Maienfisch P, Mangelinckx S (eds) Recent highlights in the discovery and optimization of crop protection products Academic Press, Elsevier Inc 35:511–523. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821035-2.00038-3>
- Hess FD, Anderson RJ, Reagan JD (2001) High throughput synthesis and screening: the partner of genomics for discovery of new chemicals for agriculture. *Weed Sci* 49(2):249–256. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0249:htsast\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0249:htsast]2.0.co;2)
- Huang B, Chen F, Shen Y, Qian K, Wang Y et al. (2018) Advances in targeted pesticides with environmentally responsive controlled release by nanotechnology. *Nanomater* 8(2):102. <https://doi.org/10.3390/nano8020102>
- Huang J, Wang F, Ouyang Y, Huang Y, Jia C et al. (2021) HerbiPAD: a free web platform to comprehensively analyze constitutive property and herbicide-likeness to estimate chemical bioavailability. *Pest Manag Sci* 77(3):1273–1281. [doi:10.1002/ps.6140](https://doi.org/10.1002/ps.6140)
- Hubbard M, Hynes RK, Bailey KL (2015) Impact of macrocidins, produced by *Phoma macrostoma*, on carotenoid profiles of plants. *Biol. Control* 89:11–22. [doi:10.1016/j.biocontrol.2015.04](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04)
- Hubbard M, Taylor WG, Bailey KL, Hynes RK (2016) The dominant modes of action of macrocidins, bioherbicidal metabolites of *Phoma macrostoma*, differ between susceptible plant species. *Environ Exp Bot* 132:80–91. [doi:10.1016/j.envexpbot.2016.08.009](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.08.009)
- Huo J, Zhao B, Zhang Z, Xing, J, Zhang J et al. (2018) Structure-Based Discovery and Synthesis of Potential Transketolase Inhibitors. *Molecules* 23(9):2116. <https://doi.org/10.3390/molecules23092116>

- Irvine NM, Yerkes CN, Graupner PR, Roberts RE, Hahn DR et al. (2008) Synthesis and characterization of synthetic analogs of cinnacidin, a novel phytotoxin from *Nectria* sp. *Pest Manag Sci* 64(9):891–899. <https://doi.org/10.1002/ps.1579>
- Jamil M, Wang JY, Yonli D, Patil RH, Riyazaddin M et al. (2022) A new formulation for strigolactone suicidal germination agents, towards successful *Striga* management. *Plants* 11(6):808. <https://doi.org/10.3390/plants11060808>
- Jeschke P (2022) Manufacturing approaches of new halogenated agrochemicals. *EuroJOC* 12(2022): e202101513. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202101513>
- Kalra R, Conlan XA, Goel M (2021) Lichen allelopathy: a new hope for limiting chemical herbicide and pesticide use. *Biocontrol Sci Technol* 31(8):773–796. doi:10.1080/09583157.2021.1901071
- Karageorgis G, Foley DJ, Laraia L, Brakmann S, Waldmann H (2021) Pseudo natural products—chemical evolution of natural product structure. *Angew Chem Int Ed* 60(29): 15705–15723. <https://doi.org/10.1002/anie.202016575>
- Kastanias MA, Chrysayi-Tokousbalides M (2000) Herbicidal potential of pyrenophorol isolated from *Drechslera avenae* pathotype. *Pest Manag Sci* 56(3):227–232. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1526-4998\(200003\)56:3<227::aid-ps115>3.0.co;2-a](https://doi.org/10.1002/(sici)1526-4998(200003)56:3<227::aid-ps115>3.0.co;2-a)
- Kim J-S, Kwon OK (2015) fluorescence assay for high efficient mass screening of the herbicides inducing rapid membrane peroxidation. *Weed & Turfgrass Science* 4(4): 308–314. <https://doi.org/10.5660/WTS.2015.4.4.308>
- King RR, Lawrence CH, Gray JA (2001) Herbicidal properties of the thaxtomin group of phytotoxins. *J Agric Food Chem* 49(5):2298–2301. <https://doi.org/10.1021/jf0012998>
- Kirkwood RC (1993) Use and mode of action of adjuvants for herbicides: A review of some current work. *Pesticide Sci* 38(2–3): 93–102. <https://doi.org/10.1002/ps.2780380205>
- Kiselev EG, Boyandin AN, Zhila NO, Prudnikova SV, Shumilova AA et al. (2019) Constructing sustained-release herbicide formulations based on poly-3-hydroxybutyrate and natural materials as a degradable matrix. *Pest Manag Sci* 76(5):1772–1785. <https://doi.org/10.1002/ps.5702>
- Kiseleva M, Chalyy Z, Sedova I, Aksenov I (2020) Stability of mycotoxins in individual stock and multi-analyte standard solutions. *Toxins* 12(2):94. <https://doi.org/10.3390/toxins12020094>
- Knowles A (2008) Recent developments of safer formulations of agrochemicals. *Environmentalist* 28:35–44. <https://doi.org/10.1007/s10669-007-9045-4>
- Koivunen M, Marrone P (2013) Uses of thaxtomin and thaxtomin compositions as herbicides US20130288896A1
- Koradin C, Schröder H, Oyama K, Ōmura S (2021) Chemistry and biology connected: The development of Inscalis. In Recent highlights in the discovery and optimization of crop protection products. Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. 231–239. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821035-2.00011-5>
- Korres NE, Nilda R, Burgosa IT, Maurizio V, Thomas KG et al. (2019) New directions for integrated weed management: Modern technologies, tools and knowledge discovery. *Advances in Agronomy* 155:243–319. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.01.006>
- Krähmer H, Walter H, Jeschke P, Haaf K, Baur P et al. (2021) What makes a molecule a pre- or a post-herbicide – how valuable are physicochemical parameters for their design? *Pest Manag Sci* 77(11):4863–4873. <https://doi.org/10.1002/ps.6535>
- Kremer RJ (2019) Bioherbicides and nanotechnology: Current status and future trends. Nano-biopesticides today and future perspectives (Ed. O. Koull). London: Elsevier Inc. 353–366. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815829-6.00015-2>
- Li B, Yuan H, Fang J, Tao L, Huang Q et al. (2010) Recent progress of highly efficient in vivo biological screening for novel agrochemicals in China. *Pest Manag Sci* 66(3):238–47. <https://doi.org/10.1002/ps.1875>
- Li F, Ye Z, Huang Z, Chen X, Sun W et al. (2021) New  $\alpha$ -pyrone derivatives with herbicidal activity from the endophytic fungus *Alternaria brassicicola*. *Bioorg Chem* 117: 105452. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105452>
- Li KJ, Qu RY, Liu YC, Yang JF, Devendar P et al. (2018) Design, synthesis, and herbicidal activity of pyrimidine-biphenyl hybrids as novel acetohydroxyacid synthase inhibitors. *J Agric Food Chem* 66(15):3773–3782. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00665>
- Li N, Sun C, Jiang J, Wang A, C. Wang Y. et al (2021) Advances in controlled-release pesticide formulations with improved efficacy and targetability *J Agric Food Chem* 69(43):12579–12597. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05431>
- Loll A, Reinwald H, Ayobahan SU, Göckener B, Salinas G (2022) Short-term test for toxicogenomic analysis of ecotoxic modes of action in *Lemna minor*. *Environ Sci Technol* 56(16):11504–11515. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01777>
- Lorenzo P, Reboredo-Durán J, Muñoz L, Freitas H, González L (2019) Herbicidal properties of the commercial formulation of methyl cinnamate, a natural compound in the invasive silver wattle. *Acacia dealbata*. *Weed Sci* 68(1):1–37. doi: 10.1017/wsc.2019.68
- Loria R, Kers J, Joshi M. Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. *Annu Rev Phytopath* 44(1):469–487. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.032905.091147>
- Ma E, Chen K, Sun L, Fu Z, Guo J et al. (2022) Rapid construction of green nanopesticide delivery systems using sophorolipids as surfactants by flash nanoprecipitation. *J Agric Food Chem* 70 (16):4912–4920. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c00743>
- Ma J, Xu L, Wang S (2002) A quick, simple, and accurate method of screening herbicide activity using green algae cell suspension cultures. *Weed Sci* 50(5):555–559. <http://www.jstor.org/stable/4046689>
- Macías FA, Castellano D, Molinillo JMG (2000) Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *J Agric Food Chem* 48(6): 2512–2521. <https://doi.org/10.1021/jf9903051>
- Mackie ERR, Barrow AS, Christoff RM, Abbott BM, Gendall AR et al. (2022) A dual-target herbicidal inhibitor of lysine biosynthesis. *eLife* 11:e78235. <https://doi.org/10.7554/eLife.78235>
- MacLaren C, Storkey J, Menegat A, Metcalfe H, Dehnen-Schmutz K (2020) An ecological future for weed science to sustain crop production and the environment. A review. *Agron Sustain Dev* 40(24):1–29. <https://doi.org/10.1007/s13593-020-00631-6>

- Marrone P (2021) Prospects for bioherbicides. *Outlooks Pest Manag* 32(5):214–217. [https://doi.org/https://doi.org/10.1564/v32\\_oct\\_08](https://doi.org/https://doi.org/10.1564/v32_oct_08)
- Masi M, Freda F, Sangermano F, Calabrò V, Cimmino A et al. (2019) Radicinin, a fungal phytotoxin as a target-specific bioherbicide for invasive buffelgrass (*Cenchrus ciliaris*) control. *Molecules* 24(6):1086. <https://doi.org/10.3390/molecules24061086>
- Masi M, Meyer S, Clement S, Cimmino A, Evidente A. (2021) Effect of cultural conditions on the production of radicinin, a specific fungal phytotoxin for buffelgrass (*Cenchrus ciliaris*) biocontrol, by different *Cochliobolus australiensis* strains. *Nat Prod Res* 35(1):99–107. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1614583>
- Mendes PM, Ribeiro JA, Martins GA, Lucia T Jr, Araujo TR et al. (2021) Phytotoxicity test in check: Proposition of methodology for comparison of different method adaptations usually used worldwide. *J Environ Manag* 291:112698. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112698>
- Mesnager R (2021) Cofomulants in commercial herbicides. In: Mesnager R, Zahler JG (eds) *Herbicides: chemistry, efficacy, toxicology, and environmental impacts* Elsevier Inc. 87–111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823674-1.00010-9>
- Mesnager R, Defarge N, Spiroux de Vendômois J, Séralini GE (2014) Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. *Biomed Res Int* 2014:1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/179691>
- Messelhäuser MH, Linn AI, Mathes A, Sievernich B, Gerhards R (2021) Development of an agar bioassay sensitivity test in *Alopecurus myosuroides* for the pre-emergence herbicides cinmethylin and flufenacet. *Agronomy*. 11:1408. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071408>
- Minges A, Janßen D, Offermann S, Groth G (2019) Efficient *in vivo* screening method for the identification of C4 photosynthesis inhibitors based on cell suspensions of the single-cell C4 plant *Bienertia sinuspersici*. *Front Plant Sci* 10:1350. doi: 10.3389/fpls.2019.01350
- Ndou V, Phiri EE, Pieterse PJ (2022) Screening herbicides and herbicide mixtures to identify alternative chemical controls for resistant plantago biotypes. *South African J Plant Soil* 39(3):198–203. <https://doi.org/10.1080/02571862.2022.2068084>
- Ogawa Y, Tokunaga E, Kobayashi O, Hirai K, Shibata N (2020) Current contributions of organofluorine compounds to the agrochemical industry. *iScience* 23(9):101467. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101467>
- Oliveira JL, Campos EVR, Camara MC, Carvalho LB, Monteiro RA et al. (2019) Nanotechnology-based delivery systems: highlights in agricultural applications. *J Sib Fed Univ Biol* 12(3):311–328. <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0305>
- Ooka JK, Correia MV, Scotti MT, Fokoue HH, Yamaguchi LF (2022) Synthesis and Activity of 2-Acyl-cyclohexane-1,3-dione Congeners Derived from Peperomia Natural Products against the Plant p-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase Herbicidal Molecular Target Site. *Plants* 11(17):2269. <https://doi.org/10.3390/plants11172269>
- Oršolić D, Pehar V, Šmuc T, Stepanić V (2021) Comprehensive machine learning based study of the chemical space of herbicides. *Sci Rep* 11(1):1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90690-w>
- Pacanoski Z (2015). *Herbicides and Adjuvants*. In A Price, J Kelton, L Sarunaite (ed), *Herbicides, Physiology of Action, and Safety*. London: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/60842>
- Palanivel H, Tilaye G, Belliathan SK, Benor S, Abera S et al (2021) Allelochemicals as natural herbicides for sustainable agriculture to promote a cleaner environment. In: Aravind, J, Kamaraj M, Prashanthi Devi M, Rajakumar S (ed). *Strategies and tools for pollutant mitigation*. Springer Cham. 93–116. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-63575-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-63575-6_5)
- Palma-Bautista C, Vazquez-Garcia JG, Travlos I, Tataridas A, Kanatas P (2020) Effect of adjuvant on glyphosate effectiveness, retention, absorption and translocation in *Lolium rigidum* and *Conyza canadensis*. *Plants* 9(3):297. <https://doi.org/10.3390/plants9030297>
- Pannacci E, Masi M, Farneselli M, Tei F (2020) Evaluation of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) aqueous extract as a potential bioherbicide to control *Amaranthus retroflexus* L. in maize. *Agriculture* 10(12):642. <https://doi.org/10.3390/agriculture1012064>
- Park J, Brown MT, Depuydt S, Kim JK, Won DS et al. (2017) Comparing the acute sensitivity of growth and photosynthetic endpoints in three Lemna species exposed to four herbicides. *Environ Pollut* 220:818–827. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.064>
- Permatasari GW, Putranto RA, Widiastuti H (2020) Structure-based virtual screening of bioherbicide candidates for weeds in sugarcane plantation using *in silico* approaches. *Menera Perkebunan* 88(2):100–110. <http://dx.doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v88i2.379>
- Pinnech EC, Mina JG, Stark MJR et al. (2019) The identification of small molecule inhibitors of the plant inositol phosphorylceramide synthase which demonstrate herbicidal activity. *Sci Rep* 9(1):1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44544-1>
- Pires DEV, Stubbs KA, Mylne JS, Ascher DB (2022) CropCSM: designing safe and potent herbicides with graph-based signatures. *Brief Bioinform* 23(2): bbac042. <https://doi.org/10.1093/bib/bbac042>
- Poluektova E, Tokarev Y, Sokornova S, Chisty L, Evidente A et al. (2018) Curvulin and phaeosphaeride A from *Paraphoma* sp. VIZR 1.46 isolated from *Cirsium arvense* as potential herbicides. *Molecules* 23(11): 2795. <https://doi.org/10.3390/molecules2311>
- Pontes MS, Antunes DR, Oliveira IP, Forini MML, Santos JS et al. (2021). Chitosan/tripolyphosphate nanoformulation carrying paraquat: insights on its enhanced herbicidal activity. *Environ Sci Nano* 8(5):1336–1351. <https://doi.org/doi:10.1039/d0en01128b>
- Prudnikova S, Streltsova N, Volova T (2021) The effect of the pesticide delivery method on the microbial community of field soil. *Environ Sci Pollut Res Int* 28(7):8681–8697. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11228-7>
- Qu R-Y, He B, Yang J-F, Lin H-Y, Yang W-C et al (2021). Where are the new herbicides? *Pest Manag Sci* 77(6): 2620–2625. <https://doi.org/10.1002/ps.6285>
- Qu R-Y, Nan J-X, Yan Y-C, Lin H-Y, Yang W-C et al. (2021) Quinazoline-2,4-dione: A promising scaffold for herbicide discovery. In: *Recent highlights in the discovery and optimization of crop protection products*; Maienfisch P,

- Mangelinckx S (ed). Academ Press Elsevier Inc. 33:483–499. doi: 10.1016/B978-0-12-821035-2.00036-X
- Quy TN, Xuan TD, Andriana Y, Tran H, Khanh TD et al. (2019) Cordycepin isolated from *Cordyceps militaris*: its newly discovered herbicidal property and potential plant-based novel alternative to glyphosate. *Molecules* 24(16):2901. <https://doi.org/10.3390/molecules24162901>
- Rao J, Chandrani AN, Powar A, Chandra S (2020) Design and application of polyurea microcapsules containing herbicide (oxyfluorfen). *Des Monomers Polym* 23(1):155–163. <https://doi.org/10.1080/15685551.2020>
- Rao J, Chandrani AN, Powar A, Chandra S (2021) Preparation of microcapsule suspension of herbicide oxyfluorfen polyurea and its effects on phytotoxicity on rice crop. *J Dispers Sci Technol*. <https://doi.org/10.1080/01932691.2021.1951285>
- Renaud JB, DesRochers N, Hoogstra S, Garnham CP, Sumarah MW (2021) Structure activity relationship for fumonisin phytotoxicity. *Chem Res Toxic* 34(6):1604–1611. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00057>
- Riemens M, Sønderkov M, Moonen A-C, Storkey J, Kudsk P (2022) An integrated weed management framework: a pan-European perspective. *Europ J of Agron* 133:126443. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126443>
- Riemer M, Uzunova VV, Riemer N, Clarkson GJ, Pereira N et al. (2018) Phyllostictine A: total synthesis, structural verification and determination of substructure responsible for plant growth inhibition. *Chem Commun* 54(52):7211–7214. <https://doi.org/10.1039/c8cc03349h>
- Rivero-Cruz JF, Garcia-Aguirre G, Cerda-Garcia-Rojas CM, Mata R (2000) Conformational behavior and absolute stereostructure of two phytotoxic nonenolides from the fungus *Phoma herbarum*. *Tetrahedron* 56:5337–5344. doi: 10.1016/S0040-4020(00)00469-5
- Rodrigues RP, Baroni ACM, Carollo CA, Demarque DP, Pardo LFL (2020) Synthesis, phytotoxic evaluation and in silico studies for the development of novel natural products-inspired herbicides. *Biocatal Agric Biotechnol* 24:101559. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101559>
- Scheepmaker JWA, Busschers M, Sundh I, Eilenberg J, Butt TM (2019) Sense and nonsense of the secondary metabolites data requirements in the EU for beneficial microbial control agents. *Biol Control* 136:104005. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104005>
- Schreiber KJ, Austin RS, Gong Y, Zhang J, Fung P et al. (2012) Forward chemical genetic screens in *Arabidopsis* identify genes that influence sensitivity to the phytotoxic compound sulfamethoxazole. *BMC Plant Biol* 12:226. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-26>
- Seger C, Erlebach D, Stuppner H, Griesser U, Strasser H (2005) Physicochemical properties of oosporein, the major secreted metabolite of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii*. *Helv Chim Acta* 88(4):802–810. <https://doi.org/10.1002/hlca.200590057>
- Seigler, D (2006) Basic pathways for the origin of allelopathic compounds. In: Reigosa M, Pedrol N, González L (eds) *Allelopathy*. Springer Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/1-4020-4280-9\\_2](https://doi.org/10.1007/1-4020-4280-9_2)
- Serino N, Boari A, Santagata G, Masi M, Malinconico M et al. (2021) Biodegradable polymers as carriers for tuning the release and improve the herbicidal effectiveness of *Dittrichia viscosa* plant organic extracts. *Pest Manag Sci* 77(2):646–658. <https://doi.org/10.1002/ps.6123>
- Serino N, Boari A, Santagata G, Masi M, Malinconico M (2021) Biodegradable polymers as carriers for tuning the release and improve the herbicidal effectiveness of *Dittrichia viscosa* plant organic extracts. *Pest Manag Sci* 77(2):646–658. <https://doi.org/10.1002/ps.6123>
- Shan P, Lu Y, Lu W, Yin X, Liu H (2022) Biodegradable and light-responsive polymeric nanoparticles for environmentally safe herbicide delivery. *ACS Appl Mater Interfaces* 14(38):43759–43770. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c12106>
- Shino M, Hamada T, Shigematsu Y, Hirase K, Banba S (2021) Discovery and mode of action of cyclopyrimorate: A new paddy rice herbicide. In: Recent highlights in the discovery and optimization of crop protection products. Maiefisch P, Mangelinckx S (eds) Academic Press. Elsevier Inc 30:451–457. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821035-2.00033-4>
- Singh M, Tan S, Sharma SD (2002) Adjuvants enhance weed control efficacy of foliar-applied diuron. *Weed Technol*, 16(1):74–78. [https://doi.org/10.1614/0890-037x\(2002\)016\[0074:aewceo\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1614/0890-037x(2002)016[0074:aewceo]2.0.co;2)
- Singh A, Dhiman N, Kar AK, Singh D, Purohit MP (2020) Advances in controlled release pesticide formulations: prospects to safer integrated pest management and sustainable agriculture. *J Hazard Mater* 385: 121525. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121525>
- Soares da Costa TP, Hall CJ, Panjekar S, Wyllie JA, Christoff RM et al. (2021) Towards novel herbicide modes of action by inhibiting lysine biosynthesis in plants. *eLife* 10:e69444. <https://doi.org/10.7554/eLife.69444>
- Somala N, Laosinwattana C, Teerarak M (2022) Formulation process, physical stability and herbicidal activities of *Cymbopogon nardus* essential oil-based nanoemulsion. *Sci Rep* 12:10280. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14591-2>
- Sopeña F, Maqueda C, Morillo E (2009). Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation. *Ciencia e Investigación Agraria* 36(1):27–42. <https://doi.org/10.4067/s0718-16202009000100002>
- Sparks TC, Bryant RJ (2021) Impact of natural products on discovery of, and innovation in, crop protection compounds. *Pest Manag Sci*. <https://doi.org/10.1002/ps.6653>
- Sparks TC, Duke SO (2021) Structure simplification of natural products as a lead generation approach in agrochemical discovery. *J Agric Food Chem* 69(30): 8324–8346. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02616>
- Sukhoverkov KV, Corral MG, Leroux J, Haywood J, Johnen P et al. (2021) Improved herbicide discovery using physicochemical rules refined by antimalarial library screening. *RSC Advances* 11(15):8459–8467. <https://doi.org/10.1039/d1ra00914a>
- Sukhoverkov K.V, Mylne JS (2021) Systematic, small-scale screening with *Arabidopsis* reveals herbicides synergies that extend to lettuce. *Pest Manag Sci* 77(11): 4930–4941. <https://doi.org/10.1002/ps.6533>
- Székács A (2021) Herbicide mode of action. In: Emerging issues in analytical chemistry. Herbicides. Mesnage R, Zaller JG (ed). Elsevier Inc. 3:41–86. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823674-1.00008-0>
- Taban, A, Saharkhiz MJ, Khorram M (2020) Formulation and assessment of nano-encapsulated bioherbicides based on



- biopolymers and essential oil. *Ind Crops Prod* 149: 112348. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112348
- Tadros T F (2018) Formulation science and technology. Walter de Gruyter GmbH Berlin/Boston. 301 c
- Takano HK, Patterson EL, Nissen SJ, Dayan FE, Gaines TA (2019) Predicting herbicide movement across semi-permeable membranes using three phase partitioning. *Pestic Biochem Physiol* 159:22–26. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.05.009
- Takano HK, Beffa R, Preston C, Westra P, Dayan FE (2020) A novel insight into the mode of action of glufosinate: how reactive oxygen species are formed. *Photosynth Res* 144(3):361–372. https://doi.org/10.1007/s11120-020-00749-4
- Takano HK, Dayan FE (2020) Glufosinate-ammonium: a review of the current state of knowledge. *Pest Manag Sci* 76(12):3911–3925. https://doi.org/10.1002/ps.5965
- Takehita V, Carvalho LB, Galhardi JA, Munhoz-Garcia GV, Pimpinato RF (2022) Development of a preemergent nanoherbicide: from efficiency evaluation to the assessment of environmental fate and risks to soil microorganisms. *ACS Nanosci* 2(4):307–323. https://doi.org/10.1021/acsnanoscienceau.1c00055
- Tanetani Y, Kaku K, Kawai K, Fujioka T, Shimizu T (2009) Action mechanism of a novel herbicide, pyroxasulfone. *Pestic Biochem Phys* 95(1):47–55. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.06.003
- Tao Y, Reisenauer KN, Masi M, Evidente A, Taube JH et al. (2020) Pharmacophore-directed retrosynthesis applied to ophiobolin A: simplified bicyclic derivatives displaying anticancer activity. *Org Lett* 22(21):8307–8312. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c02938
- Todero I, Confortin TC, Luft L, Brun T, Ugalde GA (2018) Formulation of a bioherbicide with metabolites from *Phoma* sp. *Sci Hort* 241:285–292. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.009
- Torra J, Osuna MD, Merotto A and Vila-Aiub M (2021) Editorial: multiple herbicide-resistant weeds and non-target site resistance mechanisms: a global challenge for food production. *Front Plant Sci* 12:763212. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.763212
- Treiber L, Pezolt C, Zeng H, Schrey H, Jungwirth S (2021) Dual agents: fungal macrocidins and synthetic analogues with herbicidal and antibiofilm activities. *Antibiotics (Basel)* 10(8):1022. https://doi.org/10.3390/antibiotics10081022
- Trivella A, Stawinoga M, Dayan FE, Cantrell CL, Mazellier P et al. (2015) Photolysis of natural  $\beta$ -triketonic herbicides in water. *Water Res* 78:28–36. https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.03.026
- Truax NJ, Romo D (2020) Bridging the gap between natural product synthesis and drug discovery. *Nat Prod Rep* 37:1436–1453. https://doi.org/10.1039/d0np00048e
- Uddin MR, Park SU, Dayan FE, Pyon JY (2013) Herbicidal activity of formulated sorgoleone, a natural product of sorghum root exudate. *Pest Manag Sci* 70(2):252–257. https://doi.org/10.1002/ps.3550
- Umetsu N, Shirai Y. (2020) Development of novel pesticides in the 21st century. *J. Pestic. Sci.* 45(2):54–74. https://doi.org/10.1584/jpestics.D20-201
- Varejão EVV, Demuner AJ, Barbosa LCA, & Barreto RW (2013) The search for new natural herbicides – strategic approaches for discovering fungal phytotoxins. *Crop Protect* 48:41–50. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.02.008
- Verdeguer M, Sánchez-Moreiras AM, Araniti F (2020) Phytotoxic effects and mechanism of action of essential oils and terpenoids. *Plants* 9(11):1571. https://doi.org/10.3390/plants9111571
- Volova T, Shumilova A, Zhila N, Sukovatyi A, Shishatskaya E et al. (2020) Efficacy of slow-release formulations of metribuzin and tribenuron methyl herbicides for controlling weeds of various species in wheat and barley stands. *ACS Omega* 5(39):25135–25147. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02492
- Vurro M, Boari A, Casella F, Zonno MC (2018) Fungal phytotoxins in sustainable weed management. *Curr Med Chem* 25(2):268–286. https://doi.org/10.2174/0929867324666170426152331
- Vurro M, Boari A, Evidente A, Andolfi A, Zermane N (2009) Natural metabolites for parasitic weed management. *Pest Manag Sci* 65(5):566–571. https://doi.org/10.1002/ps.1742
- Vurro M, Miguel-Rojas C, Pérez-de-Luque A (2019) Safe nanotechnologies for increasing the effectiveness of environmentally friendly natural agrochemicals. *Pest Manag Sci* 75(9):2403–2412. https://doi.org/10.1002/ps.5348
- Vurro M, Townley HE, Morrison R, Boari A, Masi M et al. (2020) Augmented phytotoxic effect of nanoencapsulated ophiobolin A. *Nat Prod Res* 36(5):1143–1150. https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1860975
- Walker GW, Kookana RS, Smith NE, Kah M, Doolette CL et al (2018) Ecological risk assessment of nano-enabled pesticides: a perspective on problem formulation. *J Agric Food Chem* 66(26):6480–6486. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02373
- Wang H, Yao Q, Guo Y, Zhang Q, Wang Z et al (2022) Structure-based ligand design and discovery of novel tenuazonic acid derivatives with high herbicidal activity. *J Adv Res* 40:29–44. https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.12.001
- Wang L, Wang M, Fu Y, Huang P, Kong D et al. (2020) Engineered biosynthesis of thaxtomin phytotoxins. *Crit Rev Biotech* 40(8):1–9. https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1807461
- Wang Q, Song H, Wang Q (2022) Fluorine-containing agrochemicals in the last decade and approaches for fluorine incorporation. *Chin Chem Lett* 33(2):626–642. https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2021.07.064
- Wang Y, Xiong Y, Garcia EAL, Wang Y, Butch CJ (2022) Drug chemical space as a guide for new herbicide development: a cheminformatic analysis. *J Agric Food Chem* 70(31):9625–9636. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c01425
- Wang H, Wang L, Zhang X, Bai S, Jin T et al. (2021) Unravelling Phytotoxicity and Mode of Action of Tripyrasulfone, a Novel Herbicide. *J Agric Chem* 69(25):7168–7177. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01294
- Wang YL, Li JY, Shi XX et al. (2021) Web-Based Quantitative structure–activity relationship resources facilitate effective drug discovery. *Top Curr Chem* 379(6):1–24. https://doi.org/10.1007/s41061-021-00349-3
- Westwood JH, Charudattan R, Duke SO, Fennimore SA, Marrone P et al. (2018) Weed management in 2050: perspectives on the future of weed science. *Weed Sci* 66(3):275–285. https://doi.org/10.1017/wsc.2017.78

- Wilkinson AD, Collier CJ, Flores F, Mercurio P, O'Brien J et al. (2015) A miniature bioassay for testing the acute phytotoxicity of Photosystem II herbicides on seagrass. *PLoS ONE* 10(2):e0117541. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117541>
- Wu H, Ma L, Li X, Liu T (2022) Selective phytotoxic effects of sesquiterpenoids from *Sonchus arvensis* as a preliminary approach for the biocontrol of two problematic weeds of wheat. *J Agric Food Chem* 70(30):9412–9420. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c03462>
- Wu J, Zhai Y, Monikh FA, Arenas-Lago D, Grillo R et al. (2021) The Differences between the effects of a nanoformulation and a conventional form of atrazine to lettuce: physiological responses, defense mechanisms, and nutrient displacement. *J Agric Food Chem* 69(42):12527–12540. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01382>
- Xu J, Liu X, Napier R, Dong L, Li J (2022) Mode of action of a novel synthetic auxin herbicide halauxifen-methyl. *Agronomy* 12(7):1659. <https://doi.org/10.3390/agronomy12071659>
- Xu D, Xue M, Shen Z, Jia X, Hou X et al. (2021) Phytotoxic secondary metabolites from fungi. *Toxins (Basel)* 13(4):261. <https://doi.org/10.3390/toxins13040261>
- Yan Y, Liu Q, Zang X, Yuan S, Bat-Erdene U et al. (2018) Resistance-gene-directed discovery of a natural-product herbicide with a new mode of action. *Nat* 559(7714):415–418. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0319-4>
- Yan Y, Liu Q, Zang X, Yuan S, Bat-Erdene U et al. (2018) Resistance-gene-directed discovery of a natural-product herbicide with a new mode of action. *Nat* 559(7714):415–418. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0319-4>
- Yang J, Guan A, Wu Q, Cui D, Liu C (2020) Design, synthesis and herbicidal evaluation of novel uracil derivatives containing an isoxazoline moiety. *Pest Manag Sci* 76(10):3395–3402. <https://doi.org/10.1002/ps.5970>
- Yang J, Guan A, Wu Q, Cui D, Ma H et al. (2021) Discovery of a novel uracil herbicide by using intermediate derivatization approach. In: Recent highlights in the discovery and optimization of crop protection products. Maienfisch P, Mangelinckx S (ed). Academic Press. Elsevier Inc. 36:525–534. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821035-2.00039-5>
- Yang Z, Li Q, Yin J, Liu R, Tian H et al. (2021) Design, synthesis and mode of action of novel 3-chloro-6-pyrazolyl picolinate derivatives as herbicide candidates. *Pest Manag Sci* 77(5):2252–2263. <https://doi.org/10.1002/ps.6250>
- Yang L, Wang D, Ma D, Zhang D, Zhou N et al. (2021) In silico structure-guided optimization and molecular simulation studies of 3-phenoxy-4-(3-trifluoromethylphenyl) pyridazines as potent phytoene desaturase inhibitors. *Molecules* 26(22):6979. <https://doi.org/10.3390/molecules26226979>
- Yılmaz H, Hüseyin Enginar & Cemal Çifci (2021) Microencapsulation of pendimethalin with polyurethane-urea and determination of its stability. *J Taibah Univ Sci* 15(1):685–694. <https://doi.org/10.1080/16583655.2021.1985861>
- Yin M, Fasoyin OE, Wang C et al. (2020) Herbicidal efficacy of harzianums produced by the biofertilizer fungus, *Trichoderma brevicompactum*. *AMB Expr* 10(1):1–8 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01055-x>
- Zhang J, Jaeck O, Menegat A, Zhang Z, Gerhards R, Ni H (2013) The mechanism of methylated seed oil on enhancing biological efficacy of topramezone on weeds. *Plos One* 8(9):e74280. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074280>
- Zhang J, Xie Y, Zhang C, Zhang P, Jia C et al. (2022) Early evaluation of adjuvant effects on topramezone efficacy under different temperature conditions using chlorophyll fluorescence tests. *Front Plant Sci* 13:920902. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.920902>
- Zhang X, Zhu T, Bi X, Yang S, Huang J et al. (2021) Laboratory bioassay, greenhouse experiment and 3D-QSAR studies on berberine analogues: a search for new herbicides based on natural products. *Pest Manag Sci* 77(4):2054–2067. <https://doi.org/10.1002/ps.6233>
- Zhang Y, Lorsbach BA, Castetter S, Lambert W, Kister J et al. (2018) Physicochemical property guidelines for modern agrochemicals. *Pest Manag Sci* 74(9):1979–1991. <https://doi.org/10.1002/ps.5037>
- Zhao L, Wang Z, Peng J, Zou Y, Hui Y et al. (2021) Design, synthesis, and herbicidal activity of novel phenoxypyridine derivatives containing natural product coumarin. *Pest Manag Sci* 77(10):4785–4798. <https://doi.org/10.1002/ps.6523>
- Zhou B, Wang H, Meng B, Wei R, Wang L et al. (2019) An evaluation of tenuazonic acid, a potential biobased herbicide in cotton. *Pest Manag Sci* 75(9):2482–2489. <https://doi.org/10.1002/ps.5402>
- Zimdahl RL (2018) Herbicide formulation. In: Fundamentals of weed science. Elsevier Inc. 17:501–509. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811143-7.00017-2>
- Zonno MC, Vurro M (2002) Inhibition of germination of *Orobanche ramosa* seeds by *Fusarium* toxins. *Phytoparasitica* 30(5):519–524. <https://doi.org/10.1007/BF02979757>
- Zwanenburg B, Mwakaboko AS & Kannan C (2016). Suicidal germination for parasitic weed control. *Pest Manag Sci*, 72(11), 2016–2025. doi:10.1002/ps.4222

#### Translation of Russian References

- Govorov D.N., Zhivykh A.V., Shabelnikova A.A. (2021) [Application of pesticides. 2020th year] *Zashchita i karantin rasteniy* 6:3–4. [https://doi.org/10.47528/1026-8634\\_2021\\_6\\_3](https://doi.org/10.47528/1026-8634_2021_6_3)
- Zakharychev VV (2021) [Chemistry of herbicides]. St. Petersburg: Lan'. 592 p
- Kolupaev M.V. (2021) [Resistance of weeds to herbicides is being progressively promoted]. *Zashchita i karantin rasteniy* 4:15–16
- Mikhaylikova VV, Strebkova NS, Pustovalova EA (2020) [Active substances – the basis of chemical plant protection]. *Agrokimiya* 5:44–46. <https://doi.org/10.31857/S0002188120050105>
- Petrovskaya O, Baranovskiy S, Demidenko A, Volova T (2022) [The effect of deposited herbicidal preparations on grain crops]. *Vestnik rossiyskoy selskokhozyaystvennoy nauki* 1:47–51. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2022/1/47-51>
- Spiridonov YY, Zhemchuzhin SG, Kleimenova IY, Bosak GS (2019) [Current problems in the study and application of herbicides (digest for 2014–2017 years)]. *Agrokimiya* 6:81–91. <https://doi.org/10.1134/S0002188119060103>

- Spiridonov YY, Zhemchuzhin SG, Koroleva LM, Bosak GS (2021) [Current condition of problems in the study and application of herbicides (digest of 2017–2019)]. *Agrokimiya* 3:88–96. <https://doi.org/10.31857/S0002188121030121>
- Shpanev AM (2016) [The harmfulness of weeds in spring wheat in the north-west of the Non-Chernozem region]. *Zemledeliye* 2:42–45
- Shpanev AM (2013) [The harmfulness of weeds in the south-west of Central part of Russia]. *Zemledeliye* 3:34–37

Plant Protection News, 2023, 106(1), p. 5–25

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2023-106-1-15502>

*Full-text review*

## PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF NEW HERBICIDES BASED ON NATURAL COMPOUNDS

A. Berestetskiy

*All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: aberestetskiy@vizr.spb.ru*

Growing most major crops currently involves the use of chemical herbicides to control weeds. However, their regular use can lead to such undesirable consequences as contamination of soil and groundwater, accumulation of their residues in the crop, and the emergence of resistant populations of weeds. Therefore, developing of eco-friendly herbicides with new mechanisms of action is necessary. Natural phytotoxins of plant or microbial origin can serve as prototypes for active ingredients of chemical herbicides. This review considers: 1) the main modern trends in the development of chemical herbicides; 2) practical achievements in the use of natural compounds for weed control; 3) the use of phytotoxins as the basic components of synthetic herbicides. Analysis of the existing literature allowed us to identify some important approaches for the development of nature-derived herbicides: 1) the combination of virtual screening of libraries of natural compounds with high-throughput screening of selected substances *in vitro* and *in vivo*; 2) computer modelling and optimization of molecules using physico-chemical predictors and molecular docking; 3) development of new adjuvants and formulations, in particular on nanoscale, to reduce the application rates of active substances and the risks of their accumulation in the environment. The use of these approaches is likely to lead to the discovery of new promising herbicidal molecules for use in both organic and conventional agriculture.

**Keywords:** chemical herbicides, biorational herbicides, screening, formulations, synthesis, mechanisms of action, natural compounds

*Submitted: 18.10.2022*

*Accepted: 29.12.2022*

## РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ В ИЗУЧЕНИИ ФУНКЦИЙ ГЕНОВ У ТЛЕЙ И ДРУГИХ ПОЛУЖЕСТКОКРЫЛЫХ И БОРЬБЕ С ИХ ВРЕДНЫМИ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ

А.В. Конарев

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: [alv-konarev@yandex.ru](mailto:alv-konarev@yandex.ru)

РНК-интерференция (РНКи) – важный механизм, обеспечивающий защиту клеток эукариотических организмов от чужеродной генетической информации и регуляцию физиологических процессов в них. Раскрытие природы РНКи и создание методов целенаправленного подавления экспрессии отдельных генов открыли широкие возможности для выяснения функций генов и решения многих проблем биологии, медицины и защиты растений. Данный подход может способствовать разработке новых эффективных, высокоспецифичных и безопасных для человека и среды способов борьбы с вредными насекомыми. Уже известны отдельные примеры практического использования РНКи в технологиях борьбы с грызущими вредителями. В силу особенностей биологии, характера питания, а также путей доставки генетических конструкций в организм, РНКи у насекомых с колюще-сосущим ротовым аппаратом – тлей, клопов и другие полужесткокрылых – заслуживает отдельного рассмотрения. В обзоре обсуждаются критерии выбора целевых генов и решаемые посредством РНКи вопросы их функциональной активности, способы доставки двухцепочечных и малых РНК в организмы различных Hemiptera, нецелевое действие РНКи и пути его предотвращения. Также показаны возможности практического применения данного подхода в отношении полужесткокрылых вредителей сельскохозяйственных растений и переносчиков опасных заболеваний человека и животных.

**Ключевые слова:** Hemiptera, полужесткокрылые, тли, рнк-интерференция, сайленсинг гена, вредители, защита растений, переносчики заболеваний

Поступила в редакцию: 23.01.2023

Принята к печати: 23.03.2023

### 1. Введение

Современное сельское хозяйство остро нуждается в эффективных, высокоспецифичных и безопасных для человека и среды способах борьбы с вредными насекомыми. В основе одного из таких перспективных подходов лежит использование РНК-интерференции (РНКи) – природного механизма, позволяющего избирательно подавлять экспрессию определенных генов вредного организма с помощью коротких фрагментов РНК, что приводит к нарушению его развития или гибели. РНКи представляет собой высококонсервативный посттранскрипционный механизм подавления активности генов, в котором малые молекулы РНК используются комплексом специализированных ферментов клетки для специфичного разрушения комплементарной мРНК. В результате синтез соответствующего белка прекращается (Fire et al., 1998). В эукариотических клетках эволюционно древний механизм РНКи служит для регуляции генов и защиты от вирусов и транспозонов (Mehlhorn et al., 2021). Данный механизм может быть использован в экспериментах для изучения функций генов, а также на практике в медицине и сельском хозяйстве для подавления нежелательной активности генов, в том числе, для уничтожения патогенов или вредителей за счет введения в организм соответствующей двухцепочечной (дц) или короткой (малой) интерферирующей РНК (siRNA) (Saurabh et al., 2014; Mamta, Rajam, 2017; Tandon et al., 2021). Отметим, что в зарубежной литературе, в том

числе, приведенной выше, термином дцРНК (dsRNA), как правило, обозначают длинные (в несколько десятков или сотен нуклеотидов) непроцессированные фрагменты двухцепочечной РНК, а «короткая РНК» – фрагменты двухцепочечной РНК длиной 20–25 нуклеотидов, возникшие в результате процессинга дцРНК перед РНКи, или искусственно синтезированные.

В отличие от химических инсектицидов и трансгенных растений, продуцирующих токсины *Bacillus thuringiensis* (Bt), подход, основанный на РНКи, может быть направлен на конкретного насекомого-вредителя, не затрагивая нецелевые организмы. Теоретически любые гены, необходимые для выживания, роста, развития, размножения или питания вредного насекомого, могут служить мишенями для РНКи (Li et al., 2015). Тонкие механизмы посттранскрипционного сайленсинга генов, в частности, у насекомых, детально описаны в многочисленных обзорах (Максимов и др. 2021; Журавлев и др., 2022; Cooper et al., 2019; Vogel et al., 2019; Silver et al., 2021) и в данной работе они рассматриваться не будут.

Широкое внедрение методов борьбы с вредителями на основе РНКи во многом сдерживается зачастую весьма разнородными результатами исследований, включающих разные виды насекомых, стадии их развития, ткани и гены. Виды насекомых существенно различаются по чувствительности к дцРНК. Выяснилось, что эффективность

РНКи может значительно снижаться за счет активности рибонуклеаз (дцРНКаз), разрушающих РНК, эндосомального захвата, особенностей функционирования основного ферментативного механизма обработки дцРНК в клетках насекомого, а также неадекватной иммунной стимуляции (Cooper et al., 2019).

Значительная часть исследований по РНКи была посвящена жесткокрылым и другим вредителям с грызущим ротовым аппаратом. В свою очередь насекомые с колюще-сосущим ротовым аппаратом – тли и другие полужесткокрылые заслуживают отдельного рассмотрения в связи с вопросами РНКи ввиду особенностей их биологии, характера питания, а также путей доставки дц и коротких РНК в их организм (Andrade, Hunter, 2016). По данным Jain et al. (2021), РНКи исследовалась приблизительно у 38 видов Hemiptera, принадлежащих к 14 семействам. В большинстве случаев сообщалось об эффектах РНКи, выразившихся в повышенной смертности насекомых, затруднении переноса ими фитопатогенных вирусов и бактерий или болезнетворных для человека и животных простейших, а также в снижении устойчивости к инсектицидам.

Тли – мелкие насекомые с колюще-сосущим ротовым аппаратом, питающиеся соками растений. Из примерно 4000 известных видов тлей от 100 до 250 являются опасными вредителями сельскохозяйственных растений (Dedryver et al., 2010; Nalam et al., 2018). Потребляя большое количество флоэчного сока, они лишают растение фотосинтезатов, вводят в растение фитотоксичные секреты слюнных желез, участвуют в распространении вирусных болезней (Радченко, 2017; Nalam et al., 2018; Ray, Casteel, 2022). Важно отметить, что косвенный ущерб, наносимый тлями путем передачи вируса, нередко существенно превышает вред от их прямого воздействия на сельскохозяйственные культуры. Примерно половина из известных 600

фитопатогенных вирусов переносятся тлями, а выделяемая ими медвяная падь служит хорошей средой для развития плесневых грибов, ограничивающих фотосинтетическую активность (Dedryver et al., 2010). Ряд видов тлей служит моделью при изучении физиологической и молекулярной природы эндосимбиоза (Baumann et al., 2013; Oliver et al., 2010; Manzano-Mariñ et al., 2020; Ergin et al., 2022).

Тли представлены несколькими тысячами видов крупного надсемейства Aphidoidea, входящего в подотряд грудохоботных (Sternorrhyncha) отряда полужесткокрылых Hemiptera наряду с представителями надсемейств Aleyrodoidea (белокрыльковые), Psylloidea (листочковидные), Coccoidea (червецы и щитовки), Adelgoidea (хермесы) и Phylloxeroidea (филлоксеры) (Синев, 2013; Forego, 2008). Классификация группы еще до конца не устоялась, существуют и другие ее варианты с небольшими отличиями (Sorensen et al., 2009; Zyla et al., 2017). По данным анализа митохондриальных геномов Sternorrhyncha являются сестринской группой по отношению к остальным Hemiptera (Song et al., 2019), включая подотряды Heteroptera (клопы), Auchenorrhyncha (цикадовые) и Coleorrhyncha. Знание эволюционных связей тлей с близкими таксонами может облегчить обобщение и более эффективное использование накопленных сведений по разработке новых эффективных подходов к борьбе с данными вредителями, включая РНКи.

Задача настоящего обзора – систематизировать имеющиеся представления относительно эффективности методов РНКи при изучении различных аспектов биологии тлей и других полужесткокрылых, а также оценить возможности практического применения РНКи для борьбы с их вредными представителями, в первую очередь, в области защиты растений.

## 2. Особенности проведения экспериментов по РНКи на тлях и других Hemiptera

РНКи, показавшая свою эффективность на ряде видов насекомых с грызущим ротовым аппаратом, считается перспективным подходом и к изучению функций генов у полужесткокрылых, а также к борьбе с их представителями, наносящими вред сельскохозяйственным растениям или здоровью человека и животных. Однако при разработке соответствующих подходов к Hemiptera необходимо учитывать существенные особенности их пищеварительной системы, в которой, помимо кишечника, важную роль играют слюнные железы. Питание тлей и многих других полужесткокрылых связано исключительно с флоэмой, что существенным образом отражается на их физиологии, включая секрецию в растение продуцируемых слюнными железами эффекторных белков и ферментов, облегчающих доступ к пище, оптимизирующих ее состав и питательные свойства, а также нейтрализующих защитные реакции растения (McAllan, Adams, 1961; Nalam et al., 2018; Ahman et al., 2019; Liu et al., 2020; Silva-Sanzana et al., 2020; Zhang et al., 2022c). Ферменты и другие белки слюнных желез клопов способствуют, например, усвоению нерастворимых в воде запасных белков и углеводов семян растений (Конарев et al., 2019) или питание кровью человека и животных (Paim et al., 2017). Многие из генов, вовлеченных в данные процессы, могут послужить эффективными мишенями для сайленсинга, обусловленного РНКи.

Кроме того, для тлей характерны сложные жизненные циклы, включающие чередование первичных и вторичных хозяев (Sorensen, 2009). Они могут размножаться половым или однополым путем, быть крылатыми или бескрылыми. Посевы заселяются крылатыми тлями, которые партеногенетически дают последовательные однополые поколения посредством живорождения (Davis et al., 2012; Ahman et al., 2019). Особенности биологии тлей способствуют возможности проявления долговременных и трансгенерационных последствий экспериментальной РНКи (Jain et al., 2021). Многочисленные клоны родительской особи с идентичными геномами живут колониями и при адекватном качестве пищи и отсутствии неблагоприятных факторов ведут оседлый образ жизни, благодаря, в том числе, также и тому, что в ходе эволюции тли приобрели способность изменять метаболизм растений-хозяев в свою пользу (Zust, Agrawal, 2016; Yates, Michel, 2018; Yates-Stewart et al., 2020). Многие черты биологии тлей характерны и для ряда других растительноядных Hemiptera – питание флоэмным соком, обладающим ограниченной питательной ценностью, что обуславливает зависимость от эндосимбионтов, а также партеногенез, способность переносить фитопатогенные вирусы и другие (Jain et al., 2020; Kanakala et al., 2019; Semeraro et al., 2021; Shapoval et al., 2021).

### 3. Выбор генов-мишеней для РНКи

Выбор генов-мишеней для РНКи определяется целями исследования – выяснением функций данных генов или возможности их практического использования в связи с задачами защиты растений или решением вопросов других областей биологии. Часто результаты исследований первого направления служат основой для реализации задач второго. Подбор потенциальных генов-мишеней для РНКи осуществляется на основе данных геномного секвенирования или анализа транскриптомов. Среди тлей впервые ядерный геном был полностью секвенирован у гороховой тли *Acyrtosiphon pisum* Hart. (i5K Consortium, 2013; Li et al., 2019). Полностью или частично секвенированы геномы и других видов тлей (The aphid genome database, <http://www.aphidbase.com/aphidbase/>): соевой (*Aphis glycines* Mats.), ячменной (*Diuraphis noxia* Mord.), яблонно-подорожниковой (*Dysaphis plantaginea* Pass.), кровяной (*Eriosoma lanigerum* Hausm.), хлопковой (*Aphis gossypii* Glover), вишнёвой (*Myzus cerasi* F.), персиковой (*Myzus persicae* Sulz.), банановой (*Pentalonia nigronervosa* Coquerel), кукурузной (*Rhopalosiphum maidis* Fitch) (Chen et al. 2019a) и чермухово-злаковой (*Rhopalosiphum padi* (L.)). Секвенированы геномы и ряда других Hemiptera, например, виноградной филлоксеры *Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch) (Rispe et al., 2020) и мраморного клопа *Halyomorpha halys* (Stål) (Pentatomidae) (Sparks et al., 2020).

В свою очередь, данные транскриптомного анализа получены для гороховой тли *A. pisum*, большой злаковой тли *Sitobion avenae* F., цитрусовой тли *Aphis (Toxoptera) citricidus* (Kirkaldy), *M. persicae*, *R. padi*, *A. gossypii*, *Aphis aurantii* Boyer de Fonscolombe (NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>), клопа *H. halys* (Sparks et al., 2014).

В многочисленных экспериментах по РНКи выявлены гены, вовлеченные в те или иные важные процессы в организмах тлей и других Hemiptera, в том числе, в питание на растении (Mutti et al., 2006, 2008; Zhang et al., 2015; Abdellatef et al., 2015), оогенез и эмбриогенез (Shang et al., 2018); генезис половых клеток (Gao et al., 2021), пищевое поведение (Li et al., 2018), реакции на аттрактанты и феромоны (Fan et al., 2015; Sun, Li, 2018), синтез феромонов (Sun and Li, 2021), формирование устойчивости к инсектицидам (Gong et al., 2014; Xiao et al., 2014; He et al., 2019; Chen et al., 2019b; Zhang et al., 2019), подавление защитных реакций растений (Zhang et al., 2022b,c), перенос фитопатогенных вирусов (Tamborindeguay et al., 2013; Kanakala et al., 2019), регуляцию осмотического давления в гемолимфе (Shakesby et al., 2009), сигнальные пути (Ghosh et al., 2017; Ding et al., 2017), формирование кутикулы (Shang et al., 2020), метаболизм липидов и гликогена (Shang et al., 2016), метаболизм хитина и метаморфоз (Ye et al., 2019; Wang et al., 2021), поглощение клетками дцРНК в процессе эндоцитоза (Ye et al., 2021) и т.д. Сайленсинг большинства выявленных генов вызывал серьезные нарушения развития или резко повышал смертность насекомых, что позволило авторам исследований предлагать данные гены в качестве возможных мишеней для борьбы с вредителями. Примеры результатов подавления таких генов будут рассмотрены ниже.

Одним из важных условий пригодности потенциальных генов-мишеней тлей для защиты растений является системный эффект от РНКи, в результате чего

последствия подавления гена проявляются не в отдельной ткани, например в кишечнике, а и в других тканях или во всем организме (Tomoyasu et al., 2008; Yu et al., 2016). Для реализации системной РНКи необходимыми этапами являются поглощение дцРНК клеткой, амплификация и распространение дцРНК в другие клетки с последующей деградацией или блокировкой комплементарной мРНК (Jain et al., 2021). Хотя механизмы системной РНКи у тлей, как и других членистоногих, остаются до конца не выясненными, ее проявления открывают перед исследователями большие возможности (Barnard et al., 2012; Jain et al., 2020). Усиление введенного сигнала при системной РНКи позволяет использовать низкие количества дцРНК для получения ответа во всем организме насекомого. Поскольку подавление экспрессии осуществляется во всех тканях, становится возможным выбор генов для РНКи из всего генома данного насекомого. Это дает преимущество в ситуациях, где выбранный способ введения дцРНК не позволяет доставить ее сразу во все ткани, например, с пищей или путем инъекции (Thakur et al., 2016). Кроме того, становится возможным изучение генов на стадиях жизни, которые недоступны для обычных методов доставки дцРНК, например, на стадии яиц. ДцРНК, введенная в организм взрослой самки тли (Coleman et al., 2014; Abdellatef et al., 2015) или кровососущего клопа (Paim et al., 2013), посредством системной РНКи распространится по всему организму, включая яйцеклетки, и далее ее действие может перейти на последующие стадии или поколения в форме «родительской РНКи» (parental RNAi).

Необходимым условием для начала РНКи является поглощение клетками дцРНК. Молекулярные аспекты этого процесса хорошо изучены у классического объекта для изучения РНКи – нематоды *Caenorhabditis elegans* (*Maupas*) (Feinberg et al., 2003; Winston et al., 2007), но у многих насекомых, включая полужесткокрылых, они пока остаются невыясненными. У насекомых в целом не выявлены гомологи трансмембранного белка нематоды SID-2, вовлеченного в перенос в клетку дцРНК, а гомологи белка SID-1, хотя и найдены у ряда видов насекомых, включая тлей (Cooper et al., 2019; Jain et al., 2021), но не у всех, и они могут выполнять иные функции. Однако все же есть сведения об участии белка SID-1 в усвоении дцРНК клетками ряда Hemiptera (Jain et al., 2021), а также в развитии процесса системной РНКи, инициированного экзогенной дцРНК, например, у бурой рисовой цикадки *Nilaparvata lugens* (Stal.) (Delphacidae) (Xu et al., 2013). Другой механизм поглощения дцРНК у полужесткокрылых насекомых может быть основан на процессе кларитин-зависимого эндоцитоза. По-видимому, он наиболее важен для тех видов, у которых отсутствуют ортологи SID-1 или системная РНКи (Cooper et al., 2019).

Jain et al. (2021), учитывая сложность и множественность метаболических путей у насекомых, включая Hemiptera, полагают, что практическое применение РНКи в сельском хозяйстве может найти лишь в случае одновременного подавления нескольких генов (эффект пирамиды) или параллельного воздействия на разные участки мРНК, кодирующей определенный функционально важный белок. Успешными примерами таких подходов являются подавление двух генов трегалазы у опасного вредителя риса

бурой рисовой цикадки *N. lugens* (Kunieda et al., 2006) и применение специально сконструированной дцРНК, нацеленной на три разных участка гена ацетилхолинэстеразы у капустной моли *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) (Chandra et al., 2019). Негативные для насекомых последствия от таких подходов намного превосходили те, что были получены воздействием на одиночные гены или их отдельные участки.

Большой интерес в связи с РНКи представляют гены тлей и других Hemiptera, полученные от эндосимбиотических микроорганизмов в результате горизонтального переноса (Nikoh, Nakabachi, 2009). Для насекомых, питающихся флоэмой, особенно важны бактерии-эндосимбионты, осуществляющие синтез незаменимых аминокислот и витаминов (Sandstrom, Moran, 1999). Тли вступают в симбиотические отношения с разнообразными наследуемыми бактериями. Следует отметить, что даже само существование и широкое распространение многих насекомых-фитофагов, включая тлей и клопов, стало возможным благодаря симбионтам или заимствованным у них генам, позволяющим безопасно использовать различные растения в пищу (Elston et al., 2022; Moriyama, Fukatsum, 2022). Симбионты тлей представлены как облигатными, так и факультативными микроорганизмами. Помимо поставляющего питательные вещества облигатного симбионта, *Buchnera aphidicola*, тли могут иметь одного или более факультативных симбионтов. Последние обычно не нужны для выживания или размножения тлей, но могут выполнять ряд важных функций, например, защищать от энтомопатогенных грибов или паразитоидных насекомых (Oliver et al., 2010). Генетические системы высших организмов обладают мощными механизмами ограничения экспрессии и функционирования чужеродных генов в своем геноме, однако уже известно множество примеров прорыва подобной обороны, когда переносы генетической информации, в частности, от симбионтов или вирусов, изначально нейтральные, обеспечивали реципиенту несомненные селективные преимущества (Soucy et al., 2015). Так, в геноме кукурузной тли *R. maidis* выявлен ряд горизонтально перенесенных генов – 2 от бактерий, 7 – от грибов, 8 от простейших и 9 от водорослей (Chen et al., 2019). Горизонтально перенесенные гены выявлены и в геномах большой злаковой тли *S. avenae* и других видов тлей (Villarroel et al., 2022), клопов семейства Miridae (Xu et al., 2019b) и

других Hemiptera (Nakabachi et al., 2015; Jockusch, Fisher 2021). Соответственно, подавление экспрессии таких генов у насекомых с помощью РНКи должно приводить к негативным для них последствиям. Например, подавление после микроинъекции дцРНК работы гена *Apns-1*, перенесенного горизонтальным путем в геном гороховой тли от денсовирусов и предположительно кодирующего неструктурный вирусный белок, способный активировать транскрипцию генов, ограничивало появление крылатых форм в ответ на перенаселение (Parker, Brisson, 2019). Это позволило авторам высказать предположение, что данный заимствованный ген участвует в регуляции образования крылатых форм, которые могут легче перемещаться на новые растения-хозяева, хотя и дают меньше потомства.

Внутриклеточные симбионты, обитающие в специализированных клетках – бактериоцитах, также представляют собой потенциальную мишень для РНКи в стратегии борьбы с сосущими вредителями. По мнению Chung et al. (2018), избирательное подавление функции генов, связанных с симбиозом тли, снижает продуктивность вредителя. Эти исследователи добавили в искусственную диету гороховой тли *A. pisum* дцРНК, нацеленные на два связанных с симбиозом и экспрессируемых в бактериоцитах гена тли, *AmiD* и *LdcA1*, кодирующие соответственно амидазу и карбоксипептидазу, способные разрушать пептидогликан – важный компонент бактериальной клеточной стенки. Данные гены были когда-то получены тлей в результате горизонтального переноса от бактерий, в том числе, от видов рода *Rickettsia*, родственных современному *Wolbachia* spp. (Nikoh, Nakabachi, 2009). Теперь эти гены осуществляют защиту обитающего в бактериоцитах эндосимбионта *B. aphidicola* от хозяина, предположительно, путем деградации высвобождаемых симбионтом фрагментов пептидогликана (Chung et al., 2018). Упомянутое воздействие привело к значительному снижению численности и активности *Buchnera* и сопровождалось снижением скорости роста самой тли. Эффект усиливался при параллельном подавлении с помощью РНКи активности гена нуклеазы тли *nuc1*, что защищало дцРНК от неспецифической деградации. Гены *amiD* и *ldcA1* обнаружены в геноме многих видов тлей, а *amiD* еще и у листоблошек. Это указывает на возможность использования данного подхода для специфичного контроля различных вредных Hemiptera, питающихся флоэмным соком (Chung et al., 2021).

#### 4. Примеры подавления транскрипции генов Hemiptera методами РНКи

РНКи показала эффективность в отношении генов, отвечающих за ряд важных функций в организмах многих видов тлей и других Hemiptera, которые могут представлять интерес в качестве мишеней при разработке соответствующих методов защиты растений или борьбы с переносчиками заболеваний человека и животных.

##### 4.1. Тли

РНКи-опосредованное подавление экспрессии гена у тлей было впервые достигнуто путем прямой инъекции дцРНК или малых РНК (siRNA) в гемолимфу. Этот подход был использован для подавления гена *C002*, активно экспрессируемого в слюнных железах гороховой тли (Mutti et al., 2006). Сайленсинг данного гена сопровождался гибелью тлей на растениях, но не на искусственной диете, что

указывало на то, что *C002* вовлечен во взаимодействие тли с растением-хозяином (Mutti et al., 2006, 2008). Микроинъекция длинной дцРНК в гороховую тлю также приводила к подавлению на 30–40% экспрессии генов, кодирующих кальретикулин и катепсин (Jaubert-Possamai et al., 2007). Кальретикулин представляет собой многофункциональный растворимый белок, который вырабатывается в некоторых тканях тли и связывает кальций. В свою очередь отдельные цистеиновые протеазы – катепсины специфически экспрессируются в кишечнике гороховой тли и являются пищеварительными ферментами. Таким образом было показано, что РНКи может быть эффективной в отношении отличающихся по функциям генов, которые экспрессируются в различных тканях тлей (Jaubert-Possamai et al., 2007).

Кормление дцРНК, полученной *in vitro* и включенной в состав искусственной диеты, также может подавлять экспрессию соответствующего гена тли. Питание гороховой тли кормом, содержащим дцРНК, соответствующей транскрипту белка аквапорина, приводило к снижению экспрессии более чем в два раза в течение 24 часов (Shakesby et al., 2009). Поскольку аквапорины вовлечены в осморегуляцию, это приводило к повышению осмотического давления в гемолимфе. В другом исследовании включение в искусственную диету дцРНК, нацеленной на мРНК, кодирующую V-АТФазу, приводило к снижению уровня транскриптов у гороховой тли на 30% и значительному росту её смертности (Whyard et al., 2009).

Для подходов, основанных на РНКи, обусловленной транскрипционными растениями, широко используется зеленая

персиковая тля *M. persicae*. Она способна питаться такими модельными растениями как *Nicotiana benthamiana* Domin и *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., тогда как у гороховой тли *A. pisum* набор кормовых растений намного уже, поскольку она питается только бобовыми (Coleman et al., 2016). РНКи была использована для подавления благоприятствующих тлям генов растений, участвующих в ослаблении защитной реакции растений или облегчающих насекомым доступ к пище и улучшающих ее питательную ценность (Ahman et al., 2019). По мнению авторов, сайленсинг таких генов может быть использован в селекции растений на устойчивость к тлям. Примеры некоторых из многочисленных экспериментов по применению РНКи у тлей и других Hemiptera приведены в Таблице 1.

**Таблица 1.** Примеры применения РНК-интерференции для выяснения функций генов у тлей и других полужесткокрылых и защиты растений от этих вредителей (по Jain et al., 2020 с дополнениями и изменениями)

**Table 1.** Examples of application of RNA-interference for elucidation of gene function of aphids and other hemipterans and for plant protection against these pests (after Jain et al., 2020)

Вид	Способ доставки дцРНК/ короткой РНК	Целевой ген или контролируемый им белок; этап/путь биосинтеза	Научная проблема, результат исследования или эффект от сайленсинга генов в результате РНКи	Ссылки
<i>Развитие, репродукция и жизнеспособность тлей</i>				
<i>Aphis citricidus</i>	Р	Гены вителлогенина, и его рецептора	Замедление эмбрионального развития и снижение количества новорожденных нимф за счет подавления синтеза вителлогенина	Shang et al., 2018
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Ин	<i>C002</i>	Высокая смертность за счет снижения синтеза в СЖ белка, вовлеченного в питание на растении, но не на ИД	Mutti et al. 2006, 2008
<i>Schizaphis graminum</i>	ИД	<i>SgC002/</i> белок 21.5 кДа	Смертность при питании на пшенице, но не на ИД	Zhang et al., 2015
<i>Aphis citricidus</i>	Р	Гены рецепторов инсулина	Нарушение превращения нимф в имаго	Ding et al., 2017
<i>Aphis citricidus</i>	Р	гены вителлогенина ( <i>AcVg</i> ) и его рецептора ( <i>AcVgR</i> )	Многочисленные нарушения развития	Shang et al., 2018
<i>Aphis citricidus</i>	Р	Гены 3-кетоксилаза-КоА тилолазы и гликоген фосфорилазы	Подавление генов метаболизма липидов и гликогена приводит к недоразвитию крыльев	Shang et al., 2016
<i>A. citricidus</i> , <i>Ac. pisum</i> , <i>M. persicae</i>	Р	Ген белка кутителы 19 <i>CP19</i>	Повышение смертности у тлей, но не у их хищника	Shang et al., 2020
<i>Sitobion avenae</i>	ТГ ячмень	<i>shp</i>	Нарушения питания и развития, снижение выживаемости у нескольких поколений	Abdellatif et al., 2015
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Ин	калретикулин и катепсин	РНКи применима для сайленсинга генов в разных тканях тли	Jaubert-Possamai et al., 2007
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	ИД	аквапорин	Подавление экспрессии в кишечнике ведет к повышению осмотического давления в гемолимфе	Shakesby et al., 2009
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	ИД	<i>vATPase</i>	Видоспецифичные дцРНК селективно убивают <i>A. pisum</i> и другие виды насекомых	Whyard et al., 2009
<i>Acyrtosiphon pisum</i> <i>Aphis citricidus</i> <i>Myzus persicae</i>	Пн	<i>ApC002</i> , <i>ApCat</i> , <i>ApVhal26</i> , <i>ApVGSC</i> , <i>ApCP19</i> , and <i>ApCHS</i>	Сайленсинг ряда отличающихся по функциям генов привел к гибели насекомых	Niu et al., 2019
<i>Myzus persicae</i>	ИД	<i>Gustavus</i> ( <i>MpGus</i> )	Сайленсинг гена, контролирующего генезис половых клеток, вызывает снижение плодовитости	Gao et al., 2021
<i>Sitobion avenae</i>	ИД, ТГ	ген цинкосодержащего белка <i>SaZFP</i>	Снижение плодовитости и выживаемости тлей; транскрипционный эффект. Перспективный ген-мишень для защиты растений	Sun et al., 2019



Продолжение таблицы 1 // Table 1 continued

Вид	Способ доставки дцРНК/ короткой РНК	Целевой ген или контролируемый им белок; этап/путь биосинтеза	Научная проблема, результат исследования или эффект от сайленсинга генов в результате РНКи	Ссылки
<i>Поведение</i>				
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Ин	Нейропептид F	Уменьшение потребления пищи за счет снижения аппетита	Li et al., 2018
<i>Schizaphis graminum</i>	Пн (Спрей)	<i>Sg2204</i> /эффекторный белок из СЖ	Нарушение пищевого поведения тли; снижение выживаемости и плодовитости, усиление защитных реакций пшеницы	Zhang et al., 2022b
<i>Sitobion avenae</i>	ИД	<i>SaveOrco</i>	Ослабление реакций на аттрактанты и феромоны	Fan et al., 2015
<i>Устойчивость к инсектицидам</i>				
<i>Aphis gossypii</i>	Ин	УДФ-гликозил-тран-сфераза	Снижение устойчивости к имidakлоприду	Chen et al., 2019b
<i>Schizaphis graminum</i>	ИД	<i>MRA, GAT, TLP</i>	то же	Zhang et al., 2019
<i>Aphis gossypii</i>	ИД	Карбоксилэстераза	Снижение устойчивости к органофосфатам	Gong et al., 2014
<i>Sitobion avenae</i>	ТГ	Карбоксилэстераза	Снижение устойчивости к фоксиму	Xu et al., 2014
<i>Rhopalosiphum padi</i> , <i>Sitobion avenae</i>	Ин	Ацетилхолинэстераза 1	Снижение устойчивости к пиримикарбу и малатиону	Xiao et al., 2014
<i>Метаболические и сигнальные пути</i>				
<i>Rhopalosiphum padi</i>	Ин	Гены гликолиза и метаболизма терпеноидов, сигнальный путь инсулина	Феромон тревоги синтезируется в процессе гликолиза и терпеноидного пути под управлением сигнального пути инсулина	Sun, Li., 2021
<i>Aphis gossypii</i>	ИД	<i>Фарнезил-дифосфат</i> синтаза	Выявление взаимосвязей между образованием феромона тревоги и биосинтезом терпеноидов	Sun, Li 2018
<i>Halyomorpha halys</i>	Р	Кислая метилтрансфераза ювенильного гормона (ЖАМТ) и виталлогенин (Vg)	Снижение экспрессии целевых генов	Ghosh et al., 2017
<i>Sitobion avenae</i>	Р	<i>Фактор созревания липазы 2</i>	Снижение выживаемости и репродуктивной способности	Xu et al., 2017
<i>Молекулярные механизмы метаболизма хитина и метаморфоза</i>				
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	ИД	Гены <i>трегалозо-6-фосфатсинтазы</i> и <i>трегалазы</i>	Аномальные фенотипы, деформации тела и крыльев после линьки	Wang et al., 2021
<i>A. pisum</i>	Ин Р	Ген хитин-синтазы	Уродства личинок при линьке и снижение плодовитости	Ye et al., 2019
<i>Роль эндоцитоза в поглощении клеткой дцРНК клетками</i>				
<i>Acyrtosiphon pisum</i>	ИД	<i>Arhc</i> и <i>Arvha16</i>	Гены кларитин-зависимого эндоцитоза вовлечены в поглощение дцРНК клетками тлей	Ye et al., 2021
<i>Выбор оптимального пути доставки короткой РНК</i>				
<i>Acyrtosiphon pisum</i> , <i>Aphis glycines</i> , <i>Schizaphis graminum</i>	ПН	<i>tor, bcat</i>	Нанесение в форме аэрозоля с наночастицами повышает эффективность РНКи	Thairu et al., 2017
<i>Перенос вирусов</i>				
<i>Schizaphis graminum</i>		циклофилины	Циклофилины участвуют в переносе тлями вируса желтой карликовости злаков	Tamborindeguy et al., 2013
<i>Bemisia tabaci</i>		<i>CypB</i> и <i>hsp70</i>	Циклофилины и белок теплового шока участвуют в переносе белокрылкой вируса TYLCV на томатах	Kanakala et al., 2019

Р – Листья или черенки, содержащие дцРНК; ТГ – трансгенные растения; Ин – инъекция; ПН – поверхностное (местное) нанесение; ИД – искусственная диета; СЖ – слюнные железы.

Следует отметить, что, несмотря на обилие сообщений об успешном подавлении роста и развития насекомых в экспериментах по РНКи с использованием дцРНК или искусственной микроРНК, пока лишь немногие из этих подходов нашли практическое применение. Особенности физиологии конкретных видов тлей, затрагивающие поглощение РНК-конструкций, их деградацию нуклеазами,

обработку в клетке и системную реакцию, существенным образом влияют на эффективность РНКи и возможность развития резистентности к РНКи в полевых условиях. Очевидно, что следует продолжать поиск перспективных для РНКи генов у основных вредных видов тлей и других Hemiptera, а также повышать специфичность подходов к их подавлению для защиты полезных видов.

#### 4.2. Белокрылки

Белокрылки (Aleyrodidae), подобно тлям, помимо прямого ущерба сельскому хозяйству от питания на растениях, наносят большой урон, индуцируя у многих культур физиологические нарушения, перенося фитопатогенные вирусы, а также вызывая ряд проблем, связанных с выделением медвяной пади и последующим ростом на листьях плесневых грибов (Jain et al., 2021). Широкое применение химических инсектицидов привело к развитию, в частности, у табачной белокрылки *Bemisia tabaci* (Gennadius) резистентности к большинству препаратов (Perier et al., 2022). К настоящему времени накоплено немало примеров, указывающих на перспективность использования РНКи в борьбе с данными вредителями (Grover et al., 2019; Tian et al., 2019; Saurabh et al., 2021). Так, по данным Kanakala et al. (2019), белки *B. tabaci* циклофилин В и белок теплового шока, контролируемые генами *CypB* и *hsp70*, соответственно, взаимодействуют в кишечнике с вирусом желтой курчавости листьев томатов (TYLCV) и играют важную роль в его дальнейшем переносе насекомыми. Подавление этих генов посредством специфичных к ним дцРНК, экспрессируемых в растениях томата, зараженных рекомбинантным табачным вирусом *Tobacco rattle virus* (TRV) с встроенными в него соответствующими генетическими конструкциями, сопровождалось гибелью более 80% особей и нарушением способности переносить вирусы.

He et al. (2019) показали, что сочетание РНКи с инсектицидами может существенно повысить эффективность борьбы с данным вредителем. Так, подавление гена *ABCG3*, контролирующего экспрессию транспортера ABC, белка, вовлеченного в детоксификацию ксенобиотиков, заметно увеличивало смертность биотипа Q *B. tabaci* после обработки насекомых имидаклопридом.

Рекомбинантный энтомопатогенный гриб *Isaria fumosorosea* Wize был использован для доставки в организм белокрылки дцРНК, подавляющей экспрессию гена *TLL7*, контролирующего синтез белка, связанного с иммунитетом, что привело к смертности 90% нимф (Chen et al., 2015). Конечно, подобные подходы представляют, в первую очередь, интерес для выяснения функций генов, а путь их до практики пока весьма далек хотя бы из соображений безопасности для полезной энтомофауны.

#### 4.3. Цикадовые

Вредоносность ряда представителей подотряда цикадовых Auchenorrhyncha в последнее время существенно возросла с увеличением химических обработок посевов против других вредителей, в связи с чем большие надежды возлагаются на альтернативные методы борьбы, включая РНКи. В целом ряде работ изучались последствия подавления с помощью РНКи экспрессии различных жизненно важных генов у цикадок – злостных вредителей риса и других культур, а также опасных переносчиков фитопатогенных вирусов (Matsumoto, Hattori, 2018; Singh et al., 2018; Wang et al., 2018; Waris et al., 2018; Wang et al., 2019; Lou et al., 2019). Waris et al. (2018), подавив экспрессию хемосенсорного белка, вызвали ослабление поведенческих реакций у вредителя риса – бурой рисовой цикадки *N. lugens*. Matsumoto и Hattori (2018) с использованием РНКи установили важную роль эффекторного белка NcSP75, синтезируемого слюнными железами, в обеспечении возможности питания цикадки *Nephotettix cincticeps*

(Uhler) флэзмой. Lou et al. (2019) показали необходимость белка NChP38, содержащего домен участвующего в формировании оболочки яйца амелогенина, для нормальной овуляции *N. lugens*. Wang et al. (2018) указали на ген кальций-связывающего белка кальмодулина, важного для клеточной активности и участвующего в вителлогенезе, как потенциальную мишень для борьбы с бурой рисовой цикадкой посредством его сайленсинга с применением комплементарной дцРНК.

#### 4.4. Мучнистые червецы

Мучнистые червецы (сем. Pseudococcidae, надсемейство Coccoidea) отличаются тем, что с ними трудно бороться химическими методами из-за покрытия их тела воском и обитания в недоступных для обработки частях растения (Omar et al., 2019). В связи с этим был предложен подход, основанный на доставке в растение определенных дцРНК с помощью вируса (Waqas et al., 2021). Инфекция табака рекомбинантным вирусом X картофеля, экспрессирующим дцРНК, нацеленные на гены хитинсинтазы 1 (*CHS1*) (Khan et al., 2015) и *bursicon* (Khan et al., 2018) мучнистого червеца *Phenacoccus solenopsis* Tinsley, привела к появлению морфологических аномалий и повышенной смертности у имаго вредителя, питавшихся на данных растениях, и их потомства. Подобным образом подавление генов, контролирующих актин, V-АТФазу и хитинсинтазу 1, при питании цитрусового червеца *Planococcus citri* (Risso) на табаке, инфицированном рекомбинантным вирусом табачной мозаики, приводило к снижению плодовитости и росту смертности насекомых (Khan et al., 2013).

#### 4.5. Клопы

РНКи у клопов (Heteroptera) изучали как на растительных представителях семейств Miridae (Walker, Allen et al., 2011; Allen, Walker, 2012; Liu et al., 2019), Lygaeidae (Bewick et al., 2019), Pyrrhocoridae (Kostal, Tollarova-Borovanska, 2009; Kotwica-Rolinska et al., 2017), Alydidae (Ikeno et al., 2014), Pentatomidae (Sugahara et al., 2016; Mogilicherla et al., 2018; Castellanos et al., 2019; Souza et al., 2022; Finetti et al., 2023) и Scutelleridae (Amiri et al., 2016; Amiri, Bandani, 2020), многие из которых являются злостными вредителями сельскохозяйственных культур, так и на кровососущих видах – переносчиках опасных болезней человека и животных из семейств Reduviidae (Paim et al., 2013; Salcedo-Porrás et al., 2019; Finetti et al., 2023) и Cimicidae (Basnet, Kamble, 2018). В большинстве работ с клопами доставка дцРНК осуществлялась инъекцией, поверхностным нанесением или с кормом. Результаты экспериментов на разных видах и разных генах существенно отличались по эффективности сайленсинга, его продолжительности и влиянию на жизнеспособность насекомых.

Мраморный клоп *H. halys* из группы щитников (Pentatomidae) – серьезный вредитель сельскохозяйственных культур в Европе, на Ближнем Востоке, а также на американском континенте. Имеющиеся методы борьбы пока недостаточно эффективны и не смогли остановить его недавнее распространение на Юге России (Карпун и др., 2022). Доставка посредством инъекции или кормления дцРНК, нацеленных на гены *IAP*, *SNF7* и *PPI*, кодирующие ингибитор апоптоза, вакуолярный сортирующий белок SNF7 и протеинфосфатазу 1 соответственно, приводила к существенному снижению их экспрессии, что

сопровождалось более чем 70-процентной смертностью личинок и имаго *H. halys* (Mogilicherla et al., 2018). Сайленсинг генов кислой метилтрансферазы ювенильного гормона (*JHAMT*) и вителлогенина (*vg*) наблюдался после поглощения *H. halys* корма с соответствующими дцРНК (Ghosh et al., 2017). Castellanos et al. (2019) показали, что инкапсулирование в липосомы совместно с ЭДТА является одним из перспективных путей создания систем доставки в клетки питающихся флоэмным соком насекомых дцРНК, нацеленных на гены, контролирующие актин мышц и V-АТФазу А. Данный подход защитил дцРНК от деградации нуклеазами при доставке посредством питания, и обеспечил повышенную смертность другого представителя семейства Pentatomidae – клопа «коричневая вонючка» *Euschistus heros* (Fabricius).

Пока выполнено относительно немного исследований по РНКи у Miridae. Одной из проблем явилась низкая эффективность дцРНК при доставке с пищей, в отличие от инъекций, видимо из-за активности нуклеаз в слюнных железах, например у *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Allen, Walker, 2012). Однако известны и другие примеры. Так, питание клопа *Apolygus lucorum* (Meyer-Dur) на трансгенных кукурузе и сое, продуцирующих дцРНК против гена *AlucV-ATPase-E*, привело к массовой гибели клопов, что указывает на принципиальную возможность использования пероральной доставки дцРНК для борьбы с вредными Miridae (Liu et al., 2019).

Bewick et al. (2019), используя РНКи, показали, что ДНК-метилтрансфераза 1 (DNMT1) играет важную роль в формировании яиц и развитии зародышей клопа *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) (Lygaeidae). Но подавление экспрессии контролирующего ее гена, сопровождающееся потерей жизнеспособности яиц, не оказывает заметного влияния на экспрессию других генов насекомого. Пример с *O. fasciatus* позволил Amukamara et al. (2020) предположить, что DNMT1 практически не участвует в метилировании ДНК и контроле экспрессии генов, но выполняет множество иных функций у некоторых групп насекомых.

Исследования по РНКи у представителя семейства Pyrrhocoridae – клопа-солдатика *Pyrrhocoris apterus* (L.) позволили установить роль генов циркадных ритмов в регуляции фотопериодизма (Kotwica-Rolinska et al., 2017) и выявить закономерности управления этими генами активностью кишечника через гормональную систему насекомых (Vajgar et al., 2013). Kostal et al. (2009) применив методы РНКи, обнаружили важную роль накопления белка теплового шока РаHsp70 в повышении толерантности *P. apterus* к холоду.

Представитель семейства Alydidae, соевый клоп *Riptortus pedestris* (Fabricius), вредящий на посевах сои в Китае и Южной Кореи (Dong et al., 2022), послужил объектом изучения механизмов фотопериодизма с применением РНКи (Ikeno et al., 2014; Mano, Goto, 2022). Последние изучали молекулярные связи между циркадными часами и эндокринными сигнальными путями у *R. pedestris*. Они показали, что «часы» могут контролировать фотопериодический ответ, в частности, переход личинки во взрослую форму при коротком дне, за счет изменения экспрессии ключевых элементов двух независимых эндокринных путей, основанных на действии инсулин-подобного пептида ILP1 и ювенильного гормона.

Единственным представителем семейства Scutelleridae, ставшим объектом изучения методами РНКи пока является опасный вредитель пшеницы в России, Турции, Иране и ряде других стран Восточной Европы и Азии – клоп вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put. Amiri et al. (2016) и Amiri, Bandani (2020) изучали последствия сайленсинга генов сериновых и цистеиновых пищеварительных протеаз на разные стороны жизнедеятельности клопов. Экспрессия в кишечнике цистеиновой протеазы Cys подавлялась специфичной к ней дцРНК, доставленной в организм насекомого путем нанесения на кутикулу (Amiri et al., 2016). Наблюдавшиеся при этом аномалии формирования личинок позволили авторам предположить вовлеченность данной протеазы в процессы роста, развития и линьки клопов. Из сериновых протеаз Amiri и Bandani (2020) выбрали изоформу GHP3, гидролизующую белки клейковины пшеницы и охарактеризованную ранее Konarev et al. (2011) и Dolgikh et al. (2014) (GenBank, accession number HM579787.1). В работе иранских исследователей данная протеаза обозначена как Gluten Hydrolase (GH). Поверхностное нанесение нацеленной на ген протеазы дцРНК вызвало у личинок 5-го возраста почти полное подавление синтеза фермента в кишечнике и в то же время индукцию его синтеза в слюнных железах. Авторы предположили, что насекомое компенсирует снижение экспрессии гена в одной части пищеварительной системы индукцией его экспрессии в другой части. В свою очередь, введение дцРНК путем инъекции снижало экспрессию гена как в кишечнике, так и в слюнных железах, но через 21 час экспрессия восстанавливалась. Подавление экспрессии гена влияло на время развития нимфы, вес имаго и выживаемость. По-видимому, помимо участия в переваривании пищи, ген данной протеазы влияет и на другие важные физиологические процессы. По мнению авторов, технология РНКи потенциально пригодна для применения в стратегиях борьбы с этим вредителем. В целом, хотя растительноядные клопы являются опасными вредителями, работ по РНКи с ними пока меньше, чем, например, с тлями. Среди возможных причин этого – высокая нуклеазная активность в пищеварительных системах.

Исследования кровососущего триатомового клопа *Rhodnius prolixus* (Stål.) (Reduviidae), известного как «ноцелульный клоп» – опасного переносчика паразитов человека и животных, проводившиеся с использованием РНКи, посвящены, в частности, одорант-связывающим белкам, вовлеченным в процессы распознавания запахов и восприятия половых феромонов (Oliveira et al., 2018), иммунным системам, участвующим в регуляции взаимоотношений клопа и переносимого им паразита (Salcedo-Portas et al., 2019), а также особенностям функционирования синтезируемой слюнными железами синтазы оксида азота, обеспечивающей релаксацию гладкой мускулатуры кровеносных сосудов жертвы (Paim et al., 2017). Последние авторы изучали долговременные последствия РНКи и «родительскую» РНКи у *R. prolixus*, что может представлять интерес для функциональной геномики Hemiptera. Они инъекцировали нимфы клопа 3 и 5 возрастов дцРНК, нацеленными на экспрессирующиеся в слюнных железах гены белков-переносчиков окиси азота – нитрофоринов 1–4 и экспрессирующийся в кишечнике ген ингибитора тромбина – роднина. Снижение экспрессии обоих генов после

разовой инъекции сохранялось на протяжении нескольких месяцев, в том числе, при смене возрастов и достижении взрослой стадии. Интересно, что последствия в форме родительской РНКи наблюдались только после инъекции нимф 5-го возраста, где эффект сохранялся до 2-го возраста потомства F1. В случае инъекции нимф 3-го возраста такого эффекта не было.

Basnet, Kamble (2018) выясняли принципиальную возможность борьбы с постельным клопом *Cimex*

### 5. Нецелевое действие РНКи и пути его предотвращения

Применение РНКи для борьбы с вредными полужесткокрылыми насекомыми подразумевает, в первую очередь, высокую, например, по сравнению с инсектицидами, специфичность дцРНК при минимальных побочных эффектах по отношению к энтомофагам и другим насекомым, животным, людям, а также к растению-хозяину (Jain et al., 2021; Zhang et al., 2022). Нецелевое действие РНКи может быть связано с высоким сходством последовательностей применяемых форм РНК с последовательностями мРНК других организмов. Сайленсинг генов при РНКи включает использование уникальной последовательности из, как минимум, 20 оснований, комплементарной определенному участку гена, что обеспечивает высокую специфичность взаимодействия. Однако такие консервативные гены как, например, рецептор экдизона, содержат длинные последовательности общие для разных насекомых, что может губительным образом сказываться на энтомофагах (Chung et al., 2021). Интересно, что наибольшую эффективность сайленсинга генов у насекомых обеспечивают относительно длинные (более 200 пар нуклеотидов) дцРНК при том, что в случае коротких РНК длины в 21–22 пары нуклеотидов достаточно для подавления целевой экспрессии у тлей и белокрылок (Jain et al., 2021). «Слишком» длинные дцРНК дают начало многим коротким РНК, что может служить одной из причин для неспецифичной РНКи (Jain et al., 2020).

Очевидно, что при выборе оптимальных последовательностей дцРНК необходимо ориентироваться на видоспецифичные или уникальные последовательности генов или мРНК целевого организма, которые могут быть выявлены на основании данных геномного или транскриптомного анализов, а затем, для исключения нежелательных взаимодействий, сопоставлены с такими данными для полезных насекомых или человека (Christiaens, Smagge, 2014). Отдельный интерес в данном случае представляют гены, приобретенные вредителем в результате горизонтального переноса от бактерий, грибов и других организмов и включенные в геном (Chen et al., 2019a). Такие гены могут быть специфичными для рода или даже вида насекомого (Wybouw et al., 2016).

Следующим этапом должно быть изучение в лабораторных условиях последствий применения выбранных последовательностей в отношении целевого вредителя и основных полезных насекомых – пчел, энтомофагов, опылителей и т.д. Однако наиболее информативными для оценки влияния препаратов на экосистемы могут быть полевые исследования, проводимые под строгим контролем (Christiaens et al., 2020a,b).

Один из путей к ограничению нецелевого эффекта РНКи может быть основан на использовании микроРНК

*lectularius* L. (Cimicidae) методом РНКи. Инъекция специфичных дцРНК на протяжении 30 дней существенно подавляла экспрессию генов, контролирующих субъединицы А и Е V-АТФазы, жизненно важного фермента, обеспечивающего транспорт протонов через мембраны клеток и органелл. Это сопровождалось нарушениями процесса откладки яиц и снижением жизнеспособности клопов – на 30-й день после инъекции дцРНК, нацеленной на ген субъединицы Е, выжило лишь 20% особей.

(miRNAs) – вариантов малых (21–23 нуклеотидов) некодирующих РНК (Green et al., 2016; Bartel, 2018). Биогенез, структура и механизмы действия микроРНК подробно описаны в обзоре O'Brien et al. (2018) и другими исследователями и здесь не рассматриваются. В отличие от дцРНК, которые подавляют гены-мишени при полной комплементарности последовательностей, микроРНК кодируются в геноме как предшественники РНК и у животных подавляют экспрессию генов-мишеней при неполной комплементарности. Это снижает специфичность их действия и может приводить к иным последствиям – например, не к сайленсингу за счет деградации мРНК, а лишь к ограничению трансляции (Chung et al., 2021; Ellwanger et al., 2011). Один вариант микроРНК может взаимодействовать с несколькими частично комплементарными им мРНК и таким образом регулировать экспрессию контролируемых их генов (Schwab et al., 2006). В свою очередь искусственные микроРНК позволяют повысить специфичность и ограничить нецелевые эффекты РНКи (Schwab et al., 2006; Peres et al., 2022).

МикроРНК растительного происхождения содержатся во флоэмном соке и при поглощении тлями они, пройдя через кишечник и гемолимфу, проникают в различные органы насекомого, включая содержащий бактерициты бактериом (Thompson et al., 2019). Известно, что полученные с пищей микроРНК растений могут оказывать влияние на экспрессию генов животных в различных органах (Vaucheret, Chupeau, 2012), что является примером информационно-генетических коммуникаций между двумя царствами природы (Zhao et al., 2018). По мнению Thompson et al. (2019) и Chung et al. (2021), микроРНК растений могут регулировать экспрессию генов в разных органах тлей, включая те, что влияют на взаимодействие хозяина и эндосимбионта. Механизмы формирования микроРНК в растениях и их транспортировки на этапах от флоэмного сока до клеток насекомых рассмотрены Thompson et al. (2019). Показано, что трансгенные растения, экспрессирующие искусственные микроРНК, могут быть эффективным средством борьбы с сосущими вредителями. Известны примеры использования механизмов биосинтеза РНК растений для получения зрелых микроРНК. Например, трансгенные растения табака, синтезирующие микроРНК против ряда генов *M. persicae*, включая ген ацетилхолинэстеразы, ограничивали экспрессию данных генов, а также выживаемость тлей (Guo et al., 2014). Позднее было обнаружено, что искусственная конструкция микроРНК, основанная на скелете пре-микроРНК (предшественника зрелой микроРНК) насекомых, которая обходит механизм обработки микроРНК растений и сохраняет исходную структуру, вызывает более высокие показатели смертности, в частности,

у чешуекрылых, чем конструкции пре-микроРНК самих растений (Bally et al., 2020; Chung et al., 2021).

Для того чтобы успешно использовать искусственные микроРНК в борьбе с вредителями в полевых условиях необходимо предварительно оценить их функции в организме насекомого. Полужесткокрылые, питающиеся флоэмным соком, не могут жить без своих бактерий-эндосимбионтов, следовательно, данное взаимодействие может являться перспективной мишенью для искусственных микроРНК, доставляемых посредством питания на растении. Feng et al. (2018b) составили перечень микроРНК, важных для скоординированного сосуществования тлей и облигатной симбиотической протеобактерии *Buchnera*. У тлей *M. persicae* и *A. pisum* были найдены микроРНК, которые либо активно экспрессировались в содержащих *Buchnera* бактериомах или дифференциально экспрессировались в

### 6. Способы доставки дцРНК в организмы тлей и других полужесткокрылых

Для успешного проведения экспериментов по РНК-интерференции на тлях необходимо выбрать наиболее эффективный способ доставки дцРНК в организм насекомого. Как и у других насекомых, дцРНК может быть введена непосредственно в тело тли путем инъекции, включена в состав искусственной диеты, в том числе введена в растение или его отдельные органы, или продуцироваться кормовым растением. Помимо трансгенных растений, постоянно экспрессирующих необходимую дцРНК, для экспериментальных целей можно использовать и временные схемы. Например, дцРНК, соответствующая генам тлей, может продуцироваться временно в листьях *N. benthamiana* после инфильтрации бактерией *Agrobacterium tumefaciens*, несущей ДНК, кодирующую дцРНК (Coleman et al., 2016). Препараты дцРНК также можно непосредственно наносить на покровы насекомого. В свою очередь, поглощение тлями дцРНК при питании растениями дает определенные преимущества перед другими способами введения действующего реагента в организм насекомого. Например, это дает возможность проводить эксперименты в более биологически адекватных условиях. Данный подход требует производить меньше манипуляций с насекомыми, предотвращает их повреждение и позволяет работать с несколькими видами насекомых сразу. Однако в случае тлей и других Hemiptera, питающихся флоэмным соком растений, этот метод не всегда работает, поскольку экспрессируемая клетками растений дцРНК не обязательно попадет в сок. Такая же проблема может возникнуть и при опрыскивании растения раствором дцРНК. В таком случае дцРНК может быть внедрена в состав сока путем вымачивания корней растения в содержащем ее растворе (Jain et al., 2020).

На усвоение клетками насекомого и соответственно эффективность РНКи может оказывать влияние длина дцРНК, причем оптимальная длина зависит от вида насекомого. Так, для достижения желаемой интерференции у жука *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) было необходимо минимум 70 нуклеотидов (Miller et al., 2012). С другой стороны, успешная РНКи у гороховой тли *A. pisum* обеспечивалась при длине малой РНК в 21–27 нуклеотидов (Mutti et al., 2006). Малые интерферирующие РНК (siRNA) могут быть получены *in vitro* с использованием фермента Dicer, формы РНКазы III – одного из

бактериомах, заселенных другими бактериями. Возможно, что данные микроРНК направлены на гены тлей, кодирующие переносчики аминокислот или другие важные для эндосимбиотических взаимоотношений функции. На основании данных о комплементарности ряда микроРНК, выявляемых в бактериомах, и отдельных сайтов в геноме эндосимбионта *Buchnera* Feng et al. (2018a) и Chung et al. (2021) высказали предположение о нацеленности подобных микроРНК тлей непосредственно на геном эндосимбионта, хотя механизмы подобных взаимодействий пока неизвестны. Помимо подходов к защите растений, основанных на подавлении экспрессии генов насекомых или их эндосимбионтов с помощью микроРНК, сами микроРНК насекомых, вероятно, могут служить мишенями для соответствующего воздействия (Ran et al., 2018).

главных элементов механизма РНКи в клетке, продуцирующей малые РНК из дцРНК *in vivo* (Bernstein et al., 2001).

При инъекции или пероральном способе доставки препаратов РНК в организмы тлей для РНКи возможно эффективное применение как дцРНК, так и малых РНК (siRNA). Инъекция малой РНК против гена *COO2* приводила к подавлению экспрессии данного гена у гороховой тли *A. pisum*, сопровождавшейся увеличением ее смертности (Mutti et al., 2006). Пероральное введение малой РНК большой злаковой тле *S. avenae* снижало экспрессию генов обонятельных рецепторов (Fan et al., 2015). Имеющиеся сведения указывает на то, что, по крайней мере, у некоторых видов насекомых, включая тлей, малые РНК могут запускать реакцию РНКи при доставке в кишечник или гемолимфу насекомого. При этом пока остаются до конца не выясненными механизмы проникновения малых РНК в клетки насекомых (Chung et al., 2021).

Нет единого мнения относительно области мРНК, которой должна соответствовать двухцепочечная РНК (например, 5' или 3'). Например, у гороховой тли *A. pisum* не наблюдалось различий в смертности в группах насекомых, которым вводили дцРНК, совпадающую с 5'- или 3'-концом гена *hunchback* (*hb*) (Mao, Zeng, 2012). У других насекомых, в частности комаров, такие различия имели место, например, для гена, вызывающего апоптоз (Pridgeon et al., 2008).

Иногда обычные подходы к доставке дцРНК в организм тлей требуют слишком много времени для получения эффекта сайленсинга определенных генов, а постоянное равномерное снабжение дцРНК в течение нескольких поколений насекомого трудно осуществимо. Для преодоления данных препятствий Elston et al. (2022) была предпринята попытка использовать специально сконструированные бактериальные симбионты, способные продуцировать дцРНК в кишечнике гороховой тли. Данный метод симбионт-опосредованной РНКи ранее показал свою эффективность на клопах хищницах, трипсах (Whitten et al., 2016) и пчелах (Leonard et al., 2020). Хотя данный подход не привел пока к ощутимым результатам на гороховой тле, Elston et al. (2022) рассчитывают усовершенствовать его в дальнейшем.

### 6.1. Микроинъекции

Микроинъекция представляет собой классический метод доставки дцРНК в ткани насекомого для инициации ответа РНКи. Он считается предпочтительным подходом для фундаментальных и функциональных геномных исследований и предоставляет уникальные преимущества за счет простоты и высокой эффективности доставки точного количества молекул, ответственных за РНКи, в яйцеклетку, нимфу или взрослую особь. Кроме того, микроинъекция позволяет молекулам дцРНК достигать интересующую экспериментатора ткань или гемолимфу, тем самым обходя такие потенциальные барьеры, как покровы тела, нуклеазы слюнных желез и кишечника или мембранные структуры кишечника, которые могут препятствовать альтернативным методам доставки, включая кормление или поверхностное нанесение (Yu et al., 2013).

Микроинъекция была успешно использована для доставки молекул интерферирующей РНК во многих исследованиях полужесткокрылых, включая гороховую тлю *A. pisum* (Will et al., 2015), белокрылку *B. tabaci* (Ghanim et al., 2007) и других. Однако у микроинъекций есть и существенные недостатки, поскольку это деликатный и трудоемкий процесс, который не пригоден для защиты растений (Joga et al., 2016). Он требует оптимизации в соответствии со стадией развития целевых насекомых и обычно ограничивается более крупными полужесткокрылыми насекомыми и их яйцами. Более мелкие насекомые, в т.ч. многие виды тлей, получают значительные повреждения при инъекции, что влияет на их физиологию, увеличивает смертность и усложняет интерпретацию результатов. В целом, доставка дцРНК путем инъекций широко используется, в основном, в исследованиях функциональной геномики полужесткокрылых *in vivo* (Jain et al., 2020).

### 6.2. Выкармливание на искусственных средах

Выкармливание на искусственных средах применяется в экспериментах по РНК-интерференции на насекомых с колюще-сосущим ротовым аппаратом – тлях, белокрылках, листоблошках, цикадах и других (Andrade, Hunter, 2016). Данный подход преодолевает некоторые проблемы и ограничения, присущие микроинъекциям и пригоден для крупномасштабного скрининга мишеней РНКи у полужесткокрылых насекомых (Zhang et al., 2013). Выкармливание на искусственной диете было, например, успешно использовано при изучении функций различных генов у ряда Hemiptera, включая ген *Orco*, влияющий на поведение и морфологию большой злаковой тли *S. avenae* (Fan et al., 2015). Однако результативность этого подхода зависит как от вида насекомого, так и многих других факторов. Несмотря на использование во многих исследованиях, данный метод имеет ряд недостатков, которые необходимо учитывать. Среди них – трудность в определении точного количества дцРНК, поглощенного насекомым, высокая смертность насекомых в контрольных опытах и ускоренная деградация дцРНК за счет загрязнения раствора бактериями или грибами. Кроме того, для достижения ожидаемого эффекта сайленсинга генов может потребоваться высокая концентрация дцРНК в питательной жидкости вследствие ее частичной или полной деградации под действием нуклеаз слюнных желез и кишечника (Joga et al., 2016; Cooper et al., 2019). Одним из путей преодоления данного препятствия является помещение дцРНК в

липосомоподобные структуры или соединение их с наночастицами (Castellanos et al., 2018; Kunte et al., 2020; Guo et al., 2022).

Применимость искусственной диеты сильно зависит от биологических особенностей вида тлей. Современные методики позволяют поддерживать культуры некоторых видов на искусственной диете на протяжении длительного времени, что может существенно облегчить стандартизацию условий для РНКи, улучшить повторяемость результатов, а также значительно упростить техническую часть исследований. Так, van Emden и Wild (2020) разработали диету и подобрали условия, позволившую непрерывно разводить персиковую тлю *M. persicae* на искусственной среде в течение 30 лет без использования растений.

### 6.3. Местное (наружное) нанесение дцРНК на насекомых и растения (topical delivery)

Нанесение на поверхность тела насекомых препаратов с дцРНК в виде капель или спрея широко используется экспериментаторами. Данный подход лишен ряда недостатков других методов доставки и, при нанесении каплями, позволяет регулировать дозу дцРНК для проведения экспериментов по РНКи (Jain et al., 2021), что важно для получения воспроизводимых результатов. Этот метод также предоставляет возможность изучать функционально разнообразные и/или родственные гены у нескольких видов полужесткокрылых одновременно, тем самым экономя время и ресурсы. Так, местное нанесение дцРНК в течение четырех дней вызывало сайленсинг ряда генов, а также повышенную смертность у гороховой тли *A. pisum* (Niu et al., 2019). Местное нанесение варианта дцРНК, нацеленного на пять близкородственных цитохромов P450 азиатской цитрусовой листоблошки *Diaphoriana citri* Kuwayama, привело к снижению устойчивости насекомого к инсектициду имидаклоприду. Это указывает на возможность использования данного способа доставки дцРНК для одновременного подавления экспрессии нескольких генов у полужесткокрылых (Killiny et al., 2014).

Сходным образом местно нанесенная дцРНК, нацеленная на кишечную цистеиновую протеазу катепсин-L клопа вредная черепашка *E. integriceps*, проникала через кутикулу и нарушала развитие нимфальной стадии, подтверждая функциональную роль гена *cus* в развитии и линьке насекомого (Amiri et al., 2016). Однако у некоторых полужесткокрылых кутикула является труднопреодолимым препятствием для проникновения дцРНК в организм. Проблема может быть решена добавлением в состав раствора для нанесения пенетрантов и/или наночастиц, которые способны повысить стабильность дцРНК и облегчить ее проникновение через кутикулу. Каплю препарата, включающего дцРНК, специфичную к гемоцитину, гомологичному фактору фон Виллебранда млекопитающих, детергент и наночастицы, наносили на нотум соевой тли *A. glycines*, после чего дцРНК проникала через кутикулу и распространялась по всему телу (Zheng et al., 2019). Thairu et al. (2017) объединили малые РНК (siRNA), специфичные к важному для пигментации гену каротиндегидрогеназы *tor* и гену *bcat* трансаминазы, участвующей в метаболизме аминокислот с разветвленной цепью, в комплекс с наночастицами. Полученный препарат путем аэрозолизации нанесли на три вида тлей (*A. pisum*, *A. glycines* and *S. graminum*),

что значительно увеличило эффективность подавления экспрессии генов.

Другие примеры иллюстрируют возможности изучения последствий РНКи, а также ее эффективности и специфичности при использовании поверхностного нанесения раствора дцРНК в сравнении с иными методами доставки этого компонента в организм полужесткокрылого насекомого. Ранее Mogilicherla et al. (2018) наблюдали высокую смертность имаго мраморного клопа щитника *H. halys* (Pentatomidae) в результате РНКи, вызванной дцРНК, специфичными к трем генам (*HhPP1*, *HhIAP* и *HhATPase*), полученными насекомыми как при питании, так и посредством инъекции. Finetti et al. (2023) наносили каплями по 1 мкл аналогичные дцРНК в концентрации от 0.5 до 3 мкг/мкл на личинок *H. halys*. Все три дцРНК вызывали снижение транскрипции у *H. halys*, но только те из них, что были направлены на *HhIAP* (дцРНК-*HhIAP*) и *HhATPase*, приводили к увеличению смертности клопов, что свидетельствует о различиях в эффективности одних и тех же дцРНК в зависимости от способов их доставки. Осуществленное этими же авторами нанесение дцРНК-*HhIAP* на личинок клопа-хищника *Rhodnius prolixus* Stal (Reduviidae), переносчика опасной для человека болезни Шагаса, не влияло на уровень транскрипции и смертность насекомых. Не давала эффекта и дцРНК, направленная на родственной гены *HhIAP* *H. halys* ген *RpIAP* самого *R. prolixus* (дцРНК-*RpIAP*). Для выяснения возможного влияния способа доставки дцРНК на результаты РНКи у *R. prolixus*, дцРНК-*HhIAP* была введена путем инъекции, что привело к снижению транскрипции и росту смертности у данного клопа. В свою очередь, введение дцРНК-*HhIAP* не имело последствий для *R. prolixus*, что свидетельствует о высокой специфичности РНКи. Очевидно, что пригодность поверхностного нанесения дцРНК для экспериментов по РНКи или для ее использования на практике для борьбы с вредными полужесткокрылыми сильно зависит от их видовых особенностей. Такой подход применим, в частности, к мраморному клопу, но не годится для «поцелуйного клопа» *R. prolixus*, возможно, из-за особенностей строения его кутикулы (Finetti et al., 2023).

#### 6.4. Использование растений и их частей для доставки дцРНК в организмы тлей и других Hemiptera

Экспрессия конструкций для РНКи, нацеленных на насекомых, в трансгенных растениях является многообещающим подходом к борьбе с сельскохозяйственными вредителями (Chung et al., 2021). Преимуществами трансгенных растений как средств доставки дцРНК/микроРНК в организм насекомых являются постоянство присутствия данных компонентов в растении и их распределение по всему растению, готовность к использованию последующих поколений растений для РНКи у насекомых и отсутствие дополнительных затрат на повторное применение. Существенным недостатком этого подхода являются присутствующие во многих странах опасения общественности относительно безопасности генной инженерии, трудности получения разрешения от регулирующих органов, в том числе, при импорте трансгенных семян или растений (Mehlhorn et al., 2021). Пока лишь немногие из конструкций, предназначенных для РНКи и перенесенных в генетически модифицированные растения, нашли коммерческое применение. Межвидовые и внутривидовые

различия в особенностях транспорта, поглощении клетками, процессинга и возможных путей деградации дцРНК или микроРНК в теле насекомых существенно влияют на эффективность РНКи, а также возможность развития устойчивости вредителей к РНКи в сельскохозяйственных условиях (Christiaens et al., 2020a,b). Необходимы дальнейшие исследования, как для определения оптимальных генных мишеней для эффективной РНК-интерференции у видов-вредителей, так и для снижения вероятности побочных эффектов у полезных видов при использовании трансгенных растений.

Первый трансгенный сорт кукурузы, экспрессирующий двухцепочечную РНК, комплементарную гену *DvSnf7* (Sucrose non-fermenting 7) западного кукурузного жука *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, был одобрен для коммерческого производства в США в 2017 году (Head et al., 2017). Помимо заметного уменьшения повреждения корней данный подход замедлял появление резистентности к Bt-токсинам Cry3Bb1 и Cry34Ab1/Cry35Ab1 вследствие «эффекта пирамиды». РНКи на основе стабильных трансгенных растений показала эффективность в ограничении численности вредителей во многих комбинациях растений и насекомых, включая тлей (Chung et al., 2021; Zhang et al., 2022a). В таких подходах упор делался на сайленсинг генов основных путей метаболизма и развития насекомых, в том числе, гена *MyCP* кутикулярного белка у зеленой персиковой тли *M. persicae*, питающейся на арабидопсисе (Bhatia, Bhattacharya, 2018), гена ацетилхолинэстеразы *MpAChE2* у *M. persicae*, питающейся на табаке (с использованием искусственных микро РНК, amiRNAs) (Guo et al., 2014), и гена *SaZFP* цинксодержащего белка у большой злаковой тли *S. avenae*, питающейся на пшенице (Sun et al., 2019). В первых двух случаях наблюдалось снижение плодовитости, а в последнем – увеличение смертности, а также другие негативные для насекомых последствия, включая трансгенерационные. Так, однодневные новорожденные нимфы были перенесены с трансгенной пшеницы на растения дикого типа, на которых тли репродуцировались. Интересным результатом явилось то, что экспрессия *SaZFP* оказалась подавленной не только у родительских форм, которые питались на трансгенных линиях, но оставалась пониженной, по крайней мере, у четырех последующих поколений и составляла соответственно 20, 29, 44 и 80% от контрольной (Sun et al., 2019). То есть, экспрессия восстанавливалась, но с большой задержкой.

Секреты слюнных желез насекомых фитофагов содержат эффекторы – белки, которые подавляют защитные механизмы растений или создают благоприятные условия для питания насекомых на растении (Hogenhout, Bos, 2011; Kaloshian, Walling, 2016). У тлей и других Hemiptera с колюще-сосущим ротовым аппаратом таких эффекторов значительно больше, чем у грызущих насекомых. В связи с этим гены таких эффекторов являются очевидными мишенями для РНКи (Ray et al., 2022; Zhang et al., 2022b,c). Для выяснения целесообразности подобного применения гены различных белков, синтезируемых слюнными железами определенного сосущего вредителя, встраивают в геном кормового растения и оценивают эффект, оказываемый ими на жизненные показатели насекомого через ослабление защитных реакций растений. Гены, благоприятствующие развитию насекомого, выбирают в качестве

мишеней для РНКи, после чего создают трансгенные растения, продуцирующие нацеленные на эти гены дцРНК. Так, Elzinga et al. (2014) показали, что растения арабидопсиса, экспрессирующие ген белка слюнных желез *M. persicae* с неизвестной функцией (*Mp55*), обеспечивали более интенсивное размножение данного вида тли. В ответ на питание тлей у трансгенного арабидопсиса снижалось накопление веществ с защитной функцией – 4-метоксииндол-3-ил метилглюкозинолата, каллозы и перекиси водорода. Кроме того, растения, экспрессирующие ген *Mp55*, также были более привлекательными для тлей при выборе кормового растения. Подавление экспрессии гена *Mp55* в *M. persicae* с использованием РНКи понизило интенсивность размножения тли на трансгенных *N. tabacum*, *A. thaliana* и *N. benthamiana*, продуцирующих соответствующую дцРНК.

Весьма интересен ген, контролирующий фактор торможения миграции макрофагов 1 (*MIF1*). У позвоночных MIF являются важными противовоспалительными цитокинами, регулирующими иммунный ответ. Гомологи белков MIF также секретируются беспозвоночными, в частности, паразитическими, и участвуют в модуляции иммунных ответов хозяина (Karabowicz et al., 2022). Такой белок был обнаружен и в секрете тлей. Выяснилось, что экспрессия гена *MIF* тлей в тканях листьев трансгенных растений подавляет основные защитные реакции растений – экспрессию генов, связанных с защитой, отложение каллозы и гибель гиперчувствительных клеток (Naessens et al., 2015). Эти авторы показали, что экспрессия генов *MIF* имеет решающее значение для выживания, плодовитости и питания тли на растении-хозяине, а *MIF1*, являющийся членом семейства белков MIF, позволяет тлям эксплуатировать растения-хозяева. Питание *A. pisum* и *M. persicae* на трансгенных растениях, экспрессирующих дцРНК, нацеленные на гены *MIF1*, сопровождалось сайленсингом последних и снижением плодовитости тлей (Naessens et al., 2015).

По данным Xu et al. (2019a) секрет слюнных желез белокрылки *B. tabaci* содержит эффектор *Bt56*, который подавляет защитные механизмы табака путем активации сигнального пути салициловой кислоты через фактор транскрипции генов *KNOX*, что ведет к подавлению защитных реакций, запускаемых жасмонатным путем. Сайленсинг соответствующего гена с помощью специфичной дцРНК снижал выживаемость и плодовитость белокрылки при питании на трансгенном растении за счет невозможности активации салицилатного сигнального пути. Нормальное развитие тли восстанавливалось, когда насекомых переносили на трансгенные растения табака, сверхэкспрессирующие *Bt56*. Следует отметить, что в большинстве подобных экспериментов с РНКи на основе трансгенных растений развитие насекомых нарушалось, численность снижалась, но они не уничтожались полностью.

Гены насекомых, участвующие в детоксикации защитных вторичных метаболитов растений, например, глюкозинолатов у представителей Brassicaceae, также являются перспективными кандидатами на подавление посредством РНКи. Сайленсинг гена *GSTs5*, кодирующего глутатион-S-трансферазу, в ответ на экспрессию дцРНК у арабидопсиса повысил восприимчивость белокрылки *B. tabaci*

к данным метаболитам и задержал ее развитие (Eakteman et al., 2018). Эти авторы предположили, что подавление подобных генов с помощью РНКи, скорее всего, не устранит популяции вредителей с полей культур семейства капустных, но значительно снизит их численность в течение вегетационного периода и поддержит активность их естественных врагов, что в конечном итоге позволит создать устойчивую агроэкосистему.

Гены, которые экспрессируются в кишечнике тлей, относительно более доступны для ингибирования конструкциями для РНКи и являются привлекательными мишенями для разработки подходов к борьбе с вредителями с использованием трансгенных растений. Так, сайленсинг генов катепсинов L приводил к снижению активности данных цистеиновых протеаз в кишечнике *M. persicae* при питании на трансгенном табаке, что отрицательно сказывалось на их жизнеспособности – сопровождалось смертностью на уровне 80% и снижением плодовитости (Rauf et al., 2019). Авторы предположили, что подобный результат может быть отчасти связан с потерей способности тлей эффективно детоксицировать защитные белки растений. Кроме того, ограничение потребления белков сопровождалось снижением содержания белков в самих тлях, что снижало их питательную ценность для хищника семиточечной коровки *Coccinella septempunctata* L. (Coccinellidae), что Rauf et al. (2019) расценивают как непрямое негативное воздействие на природного энтомофага.

Для того, чтобы использовать растения для доставки дцРНК в организм насекомого с колюще-сосущим аппаратом и обойти ограничения, связанные с трансгенными растениями, необходимо создать достаточную концентрацию данного реагента в их сосудистой системе другими способами. Была показана возможность обеспечения высокой концентрации дцРНК в сосудах ряда древесных и других растений путем вымачивания корней или опрыскивания листьев соответствующими растворами (Hunter et al., 2012; Ghosh et al., 2017). Использование частей растения – листьев, стеблей и черенков, вобравших в себя дцРНК, показало свою эффективность в экспериментах по РНКи на различных Hemiptera, питающихся как флоэмой (листоблошка *Diaphorina citri* Kuwayama), так и ксилемой (цикадка *Homalodisca vitripennis* (Germar)) (Hunter et al., 2012). Данный растительный материал сохранял пригодность для использования в опытах на протяжении 40 дней. Питание насекомых на таких растениях или их частях приводило к повышению смертности, снижению жизнеспособности яиц, а также к изменениям в развитии личинок (Andrade, Hunter, 2016).

Упомянутый подход может оказаться эффективным и в случаях, когда доставка дцРНК в организм насекомых иными способами сопряжена со значительными трудностями. Так, вителлогенин является наиболее важным белком в вителлогенезе – синтезе и накоплении желтка в развивающихся ооцитах, процессе, регулируемом ювенильным гормоном (Wu et al., 2021). Было показано, что доставка дцРНК, специфичных к генам кислой метилтрансферазы ювенильного гормона (*JHAMT*) и вителлогенина (*Vg*) мраморного клопа *H. halys*, посредством замачивания растений или их отдельных частей значительно снижает экспрессию целевых генов насекомого, питающихся таким кормом, что доказывает пригодность



подобного подхода для работы с этим вредителем (Ghosh et al., 2017). В свою очередь, питание тлей *A. citricidus* на черенках лимона, выдержанных в растворе, содержащем дцРНК, специфичные к генам вителлогенина (*Vg*) и его рецептора (*VgR*), привело к задержке превращения нимфы во взрослую особь, удлинению предрепродуктивного периода и укорочению самого репродуктивного периода, что, в свою очередь, привело к замедлению эмбрионального развития и меньшему количеству отрождённых нимф (Shang et al., 2018).

Таким образом, имеющиеся сведения указывают на то, что данный способ доставки дцРНК может быть привлекательной и биологически более естественной альтернативой другим методам для подавления экспрессии генов-мишеней насекомых как при исследованиях в области функциональной геномики у полужесткокрылых насекомых, так и для защиты растений (Jain et al., 2020). К другим преимуществам способа доставки дцРНК через «вобравшие» ее в себя растения можно отнести отсутствие необходимости создавать трансгенные растения, а также простоту смены используемых генетических конструкций. Среди недостатков – невозможность точного дозирования действующего вещества, что может осложнить интерпретацию результатов. Кроме того, не для всех растений, например злаков, может оказаться пригодной инъекция в стебель (Fletcher et al., 2020; Jain et al., 2021).

#### 7. Факторы, ограничивающие эффективность РНК интерференции у тлей и пути ее повышения

Эффективность РНКи сильно различается у представителей разных таксономических групп насекомых, причем основными факторами, обуславливающими подобные различия являются особенности расщепления дцРНК дцРНКазами и их процессинга в клетках до коротких интерферирующих РНК (siRNAs) (Wang et al., 2016; Singh et al., 2017). У разных видов насекомых, включая тлей, были выявлены и внутривидовые генетические различия по чувствительности к РНКи, (Yoon et al., 2020). Чувствительность среди 83 генотипов гороховой тли *A. pisum* к полученной перорально дцРНК против гена аквапорина *AQP1* варьировала от нулевой до 100-процентной смертности. Совместное применение данной дцРНК с дцРНК против ряда других генов тли могло приводить либо к снижению, либо к повышению смертности тлей, что говорит о существенном влиянии различных генов насекомого на эффективность РНКи в отношении целевого гена.

#### Заключение

Огромное разнообразие стратегий борьбы с вредителями может сравниться только со способностью насекомых преодолевать их. Очевидно, что эффективность подходов, основанных на РНКи, будет зависеть от того, в какой мере в них учтены биологические особенности вредного организма (Shelby et al., 2020). Несмотря на очевидный потенциал применения РНКи в борьбе с тлями и другими сосущими вредителями, для практического использования в сельском хозяйстве эти подходы нуждаются в существенном совершенствовании. Важными условиями для эффективной РНКи являются выявление целевых генов, подавление экспрессии которых приводит к наиболее тяжелым последствиям для вредителя, подбор оптимальной длины дцРНК и выбор надежного способа ее доставки

Отсутствие положительных результатов РНК-интерференции при использовании различных вариантов питания насекомых не обязательно указывает на нечувствительность насекомого к данному методу. В большинстве случаев у тлей, как и других насекомых, в секрете слюнных желез, средней кишке или даже в гемолимфе, содержатся нуклеазы, которые расщепляют дцРНК, что предотвращает ее поглощение клетками и запуск механизмов интерференции (Christiaens et al., 2014; Ghodke et al., 2019).

Помимо деградации РНК в пищеварительной системе насекомых нуклеазами, на эффективность сайленсинга генов при РНКи могут влиять также особенности поглощения дцРНК клетками и процессинга дцРНК в малые РНК, а также и системное распространение сигнала РНКи по организму. Очевидно, что необходимо учитывать видоспецифичную и раса-специфичную чувствительность к РНКи как при использовании РНКи в качестве инструмента функциональной геномики, так и при скрининге генов-кандидатов для РНК-опосредованной борьбы с вредителями (Chung et al., 2021). Подавление экспрессии генов нуклеаз в кишечнике может защитить дцРНК от деградации и усилить эффект от подавления целевых генов насекомых, в том числе и у тлей (Chung et al., 2018; Kunte et al., 2020; Silver et al., 2021).

В случае трансгенных растений на эффективность РНКи может оказывать влияние происходящий там процессинг дцРНК. Bolognesi et al. (2012) обнаружили, что клетки насекомых в большей мере поглощают длинные дцРНК, чем малые РНК. Деградация дцРНК под действием эндогенного механизма РНКи растения, включая ферменты *Dicer*, может нивелировать результативность РНКи в отношении фитофага. Среди возможных путей решения данной проблемы для подавления генов тлей и других сосущих вредителей может быть использование промоторов, обеспечивающих экспрессию дцРНК, локализованную во флоэме (Sun et al., 2019). В свою очередь, экспрессия дцРНК в трансформированных пластидах, показавшая отчетливые результаты РНКи в отношении грызущих вредителей (Zhang et al., 2015; Bally et al., 2016), оказалась неэффективной в отношении питающегося флоэмой сосущего вредителя – белокрылки *B. tabaci* (Dong et al., 2020). При этом питание белокрылки на трансгенном растении, в ядрах которого экспрессировалась соответствующая дцРНК, привело к существенному снижению жизнеспособности вредителя.

в организм насекомого (Zhang et al., 2022a). Необходимо также добиваться адекватного поставленным задачам уровня экспрессии дцРНК, а также высокой стабильности последней (Chung et al., 2021). Перспективным подходом к борьбе с различными полужесткокрылыми является применение рекомбинантных вирусов для доставки дцРНК, запускающих РНКи, однако для его реализации на практике в сельском хозяйстве потребуются преодолеть множество технических и организационных (юридических) проблем (Jain et al., 2021). Уже стало очевидным, что параллельное подавление нескольких генов со сходными физиологическими функциями может повысить эффективность РНКи у питающихся флоэмным соком Hemiptera (Tzin et al., 2015). «Эффект пирамиды» ярко проявляется в

одновременном подавлении различных жизненно важных генов у различных полужесткокрылых насекомых, а также у других вредных беспозвоночных, включая нематод (Lisei-de-Sá et al., 2021).

Еще один многообещающий подход заключается в сочетании РНКи с разнообразными токсинами. Одновременное применение РНКи и Vt-токсинов в одном и том же растении способно не только повысить устойчивость к вредителям, но и замедлить выработку резистентности вредителя к обоим факторам за счет «эффекта пирамиды», что уже было показано на чешуекрылых (Ni et al., 2017). Хотя известные формы Vt-токсинов являются малоэффективными по отношению к Hemiptera, уже намечены пути их модификации для повышения токсичности к этой группе вредителей (Chougule, Bonning, 2012), в том числе, путем встраивания в токсин Cгу4Аа сайтов, доступных для протеолиза кишечными протеазами тлей, что обеспечивает активацию токсина (Rausch et al., 2016). Обнаружены и другие бактериальные токсины, проявляющие токсичность к полужесткокрылым (Mishra et al., 2022). Кроме того, в «пирамидных» схемах совместно с РНКи могут быть использованы гены ингибиторов протеиназ, лектинов, а также других инсектицидных белков (Shukla et al., 2016; Jain et al., 2021). Несмотря на то, что РНКи пока имеет ограниченное практическое применение для защиты растений, уже известны примеры появления в

полевых условиях резистентности к РНКи, пока, однако, только для жука *D. virgifera virgifera* (Khajuria et al., 2018). При разработке стратегий РНКи, направленных на борьбу с полужесткокрылыми, необходимо принимать во внимание факторы, способствующие появлению резистентности к данному подходу и тщательно отбирать среди целевых генов наиболее важные для жизнедеятельности насекомого (Shelby et al., 2020). Следует учитывать также, что пока еще недостаточно изучены возможные негативные последствия РНКи, направленной на подавление определенного вредителя, в отношении других видов насекомых, включая энтомофагов (Chung et al., 2021).

Наиболее значимыми для практики защиты растений от тлей и других полужесткокрылых, по мнению Zhang et al. (2022a), пока являются технологии РНКи, основанные на использовании трансгенных растений, а также спреев. В настоящее время трансгенные растения находятся под запретом во многих странах, и, кроме того, не все культуры поддаются требуемой трансформации. Альтернативу представляют спреи, однако их слабым местом является низкая стабильность дцРНК в полевых условиях. По-видимому, проблема с трансгенными растениями будет все же когда-нибудь решена, а стабильность дцРНК после нанесения в составе спреев удастся существенно повысить путем включения их в комплекс с наночастицами (Kumar et al., 2019; Fletcher et al., 2020).

#### Библиографический список (References)

- Долгих ВВ, Сендерский ИВ, Конарев АВ (2014) Получение и свойства рекомбинантных протеиназ *Eurygaster integriceps* Put., гидролизующих глютеин. *Прикладная биохимия и микробиология* 50(5): 466–474. <https://doi.org/10.7868/S0555109914040205>
- Журавлев ВС, Долгих ВВ, Тимофеев СА, Ганнибал ФБ (2022) Метод РНК-интерференции в защите растений от насекомых-вредителей. *Вестник защиты растений* 105(1):28–39. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-1-15219>
- Карпун Н, Борисов Б, Журавлева Е, Борисова И и др (2022) Расширение ареалов и повышение вредоносности растительноядных клопов-щитников. *Сельскохозяйственная биология* 57(3):542–554. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.3.542rus>
- Максимов ИВ, Шейн МЮ, Бурханова ГФ (2021) РНК-интерференция в защитных системах растений. *Физиология растений* 68(4):356–370. <http://doi.org/10.31857/S0015330321030131>
- Радченко ЕЕ (2017) Устойчивость картофеля к тлям. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 21(1):74–82. <https://doi.org/10.18699/VJ17.225>
- Синёв СЮ (2013) Обзор современных представлений о системе класса насекомых. *Труды Зоологического института РАН* 317(S2):155–173. [https://www.zin.ru/journals/trudyzin/doc/vol\\_317\\_s1/TZ\\_317\\_1\\_Supplement\\_Sinev.pdf](https://www.zin.ru/journals/trudyzin/doc/vol_317_s1/TZ_317_1_Supplement_Sinev.pdf)
- Abdellatef E, Will T, Koch, A, Imani J et al (2015) Silencing the expression of the salivary sheath protein causes transgenerational feeding suppression in the aphid *Sitobion avenae*. *Plant Biotechnol J* 13:849–857. <https://doi.org/10.1111/pbi.12322>
- Ahman I, Kim SY, Zhu LH (2019) Plant genes benefitting aphids – potential for exploitation in resistance breeding. *Front Plant Sci* 10:1452. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01452>
- Allen ML, Walker III WB (2012) Saliva of *Lygus lineolaris* digests double stranded ribonucleic acids. *J Insect Physiol* 58(3):391–396. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.12.014>
- Amiri A, Bandani AR (2020) Gluten hydrolase gene silencing using RNAi and its effect on the Sunn pest growth and development. *Phytoparasitica* 48:575–587. <https://doi.org/10.1007/s12600-020-00821-8>
- Amiri A, Bandani AR, Alizadeh H (2016) Molecular identification of cysteine and trypsin protease, effect of different hosts on protease expression, and rnai mediated silencing of cysteine protease gene in the sunn pest. *Arch Insect Biochem Physiol* 91(4):189–209. <https://doi.org/10.1002/arch.21311>
- Amukamara AU, Washington JT, Sanchez Z, McKinney EC et al (2020) More than DNA methylation: does pleiotropy drive the complex pattern of evolution of Dnmt1? *Front Ecol Evol* 8:4. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00004>
- Andrade ED, Hunter WB (2016) RNA interference–natural gene-based technology for highly specific pest control (HiSPeC). In: Abdurakhmonov Y (ed.) RNA interference. London: IntechOpen. 6:391. <http://dx.doi.org/10.5772/61612>
- Bajgar A, Jindra M, Dolezel D (2013) Autonomous regulation of the insect gut by circadian genes acting downstream of juvenile hormone signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110:4416–4421. <https://doi.org/10.1073/pnas.1217060110>
- Bally J, Fishilevich E, Doran RL, Lee K (2020). PlinamiR, a pre-microRNA-based technology for controlling

- herbivorous insect pests. *Plant Biotechnol J* 18(9):1925–1932. <https://doi.org/10.1111/pbi.13352>
- Bally J, McIntyre GJ, Doran RL, Lee K et al (2016) In-plant protection against *Helicoverpa armigera* by production of long hpRNA in chloroplasts. *Front Plant Sci* 7:1453. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01453>
- Barnard AC, Nijhof AM, Fick W, Stutzer C et al (2012) RNAi in arthropods: insight into the machinery and applications for understanding the pathogen-vector interface. *Genes (Basel)* 3(4):702–741. <http://doi.org/10.3390/genes3040702>
- Bartel DP (2018). Metazoan MicroRNAs. *Cell* 173(1): 20–51. doi:10.1016/j.cell.2018.03.006
- Basnet S, Kamble ST (2018) RNAi-mediated knockdown of vATPase subunits affects survival and reproduction of bed bugs (Hemiptera: Cimicidae). *J Med Entomol* 55(3):540–546. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy001>
- Baumann P, Moran NA, Baumann LC (2013) 19 Bacteriocyte-associated endosymbionts of Insects. In: Rosenberg E et al (eds) *The Prokaryotes – Prokaryotic biology and symbiotic associations*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 483–514. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-30194-0\\_19](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30194-0_19),
- Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ (2001). Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 409: 363–366. <https://doi.org/10.1038/35053110>
- Bewick AJ, Sanchez Z, Mckinney EC, Moore AJ et al (2019) Dnmt1 is essential for egg production and embryo viability in the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus*. *Epigenetics Chromatin* 12:6. <https://doi.org/10.1186/s13072-018-0246-5>
- Bhatia V, Bhattacharya R (2018) Host-mediated RNA interference targeting a cuticular protein gene impaired fecundity in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Pest Manag Sci*, 74:2059–2068. <https://doi.org/10.1002/ps.4900>
- Bolognesi R, Ramaseshadri P, Anderson J, Bachman P et al (2012) Characterizing the mechanism of action of double-stranded RNA activity against western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). *PLoS One* 7:e47534. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047534>
- Castellanos NL, Smagghe G, Sharma R, Oliveira EE et al (2019) Liposome encapsulation and EDTA formulation of dsRNA targeting essential genes increase oral RNAi-caused mortality in the Neotropical stink bug *Euschistus heros*. *Pest Manag Sci* 75:537–548. <https://doi.org/10.1002/ps.5167>
- Chandra GS, Asokan R, Manamohan M, Kumar NK (2019) Enhancing RNAi by using concatemered double-stranded RNA. *Pest Manag Sci* 75:506–514. <https://doi.org/10.1002/ps.5149>
- Chen W, Shakir S, Bigam M, Richter A et al (2019a) Genome sequence of the corn leaf aphid (*Rhopalosiphum maidis* Fitch). *Gigascience*. 8(4):giz033. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz033>
- Chen X, Xia J, Shang Q, Song D, Gao X (2019b) UDP-glucosyltransferases potentially contribute to imidacloprid resistance in *Aphis gossypii* Glover based on transcriptomic and proteomic analyses. *Pestic Biochem Physiol* 159:98–106. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.06.002>
- Chen X, Li L, Hu Q, Zhang B (2015) Expression of dsRNA in recombinant *Isaria fumosorosea* strain targets the TLR7 gene in *Bemisia tabaci*. *BMC Biotechnol* 15:64. <https://doi.org/10.1186/s12896-015-0170-8>
- Chougule NP, Bonning BC (2012) Toxins for transgenic resistance to hemipteran pests. *Toxins* 4(6):405–429. <https://doi.org/10.3390/toxins4060405>
- Christiaens O, Smagghe G (2014) The challenge of RNAi-mediated control of hemipterans. *Curr Opin Insect Sci*. 6:15–21. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.09.012>
- Christiaens O, Niu J, Nji Tizi Taning C (2020a) RNAi in insects: a revolution in fundamental research and pest control applications. *Insects* 11:415. doi: <http://doi.org/10.3390/insects11070415>
- Christiaens O, Swevers L, Smagghe G (2014) DsRNA degradation in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) associated with lack of response in RNAi feeding and injection assay. *Peptides* 53:307–314 <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.12.014>
- Christiaens O, Whyard S, Vélez AM, Smagghe G (2020b) Double-Stranded RNA Technology to Control Insect Pests: Current Status and Challenges. *Front Plant Sci* 11:451. doi: 10.3389/fpls.2020.00451
- Chung SH, Feng H, Jander G (2021) Engineering pest tolerance through plant-mediated RNA interference. *Curr Opin Plant Biol* 60:102029. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102029>
- Chung SH, Jing X, Luo Y, Douglas AE (2018) Targeting symbiosis-related insect genes by RNAi in the pea aphid-*Buchnera* symbiosis. *Insect Biochem Mol Biol* 95:55–63. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2018.02.004>
- Coleman AD, Wouters RHM, Mugford ST, Hogenhout SA (2014) Persistence and transgenerational effect of plant-mediated RNAi in aphids. *J Exp Bot* 66:541–548. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru450>
- Coleman AD, Mugford ST, Hogenhout SA (2016). Silencing of aphid genes by dsRNA feeding from plants. In: Czosnek H, Ghanim M (eds) *Management of Insect Pests to Agriculture*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24049-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24049-7_10)
- Cooper AM, Silver K, Zhang J, Park Y, Zhu KY (2019) Molecular mechanisms influencing efficiency of RNA interference in insects. *Pest Manag Sci* 75(1):18–28. <https://doi.org/10.1002/ps.5126>
- Davis GK (2012) Cyclical parthenogenesis and viviparity in aphids as evolutionary novelties. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 318(6):448–59. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22441>
- Dedryver CA, Le Ralec A, Fabre F (2010) The conflicting relationships between aphids and men: a review of aphid damage and control strategies. *C. R. Biol.* 333: 539–553. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.03.009>
- Ding BY, Shang F, Zhang Q, Xiong Y et al (2017) Silencing of two insulin receptor genes disrupts nymph-adult transition of alate brown citrus aphid. *Int J Mol Sci* 18(2):357. <https://doi.org/10.3390/ijms18020357>
- Dolgikh VV, Senderskii IV, Konarev AV (2014) Production and properties of recombinant glutenin-hydrolyzing proteinases from *Eurygaster integriceps* Put. *Appl Biochem Microbiol* 50:433–440. <https://doi.org/10.1134/S0003683814040048>
- Dong Y, Huang X, Yang Y, Li J (2022) Characterization of salivary secreted proteins that induce cell death from *Riptortus pedestris* (Fabricius) and their roles in insect-plant interactions. *Front Plant Sci* 13: 912603. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.912603>
- Dong Y, Yang Y, Wang Z, Wu M (2020) Inaccessibility to double-stranded RNAs in plastids restricts RNA interference

- in *Bemisia tabaci* (whitefly). *Pest management science (Pest Manag Sci)*;76(9):3168–3176. <https://doi.org/10.1002/ps.5871>
- Eakteiman G, Moses-Koch R, Moshitzky P, Mestre-Rincon N et al (2018) Targeting detoxification genes by phloem-mediated RNAi: A new approach for controlling phloem-feeding insect pests. *Insect Biochem Mol Biol* 100:10–21. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2018.05.008>
- Ellwanger DC, Büttner FA, Mewes HW, Stumpflen V (2011). The sufficient minimal set of miRNA seed types. *Bioinformatics*. 27 (10): 1346–50. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr149.PMC3087955>.
- Elston KM, Maeda GP, Perreau J, Barrick JE (2022) Addressing the challenges of symbiont-mediated RNAi in aphids. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2022.08.28.505609>
- Elzinga DA, De Vos M, Jander G (2014) Suppression of plant defenses by a *Myzus persicae* (green peach aphid) salivary effector protein. *Mol Plant Microbe Interact* 27(7):747–756. <http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-01-14-0018-R>
- Ergin GO, Ozturk A, Gorur G (2022) Evaluation of interactions among aphids, endosymbionts, and host plants: a foresight for the future. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg* 2022;53(2):133–9. <https://doi.org/10.54614/AUAF.2022.1002421>
- Fan J, Zhang Y, Francis, F, Cheng D et al (2015) Orco mediates olfactory behaviors and winged morph differentiation induced by alarm pheromone in the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Insect Biochem Mol Biol* 64:16–24. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.07.006>
- Feinberg EH, Hunter CP (2003) Transport of dsRNA into cells by the transmembrane protein SID-1. *Science* 301:1545–1547. <https://doi.org/10.1126/science.108711>
- Feng H (2018a) Regulation of interactions between sap-feeding insects and their obligate endosymbionts (Doctoral dissertation, University of Miami). ProQuest Dissertations Publishing, 10790744. <https://www.proquest.com/openview/61a634ee773278621f650e600fb82b7e/1?pq-origsite=gscholar&cbl=18750>
- Feng H, Wang L, Wuchty S, Wilson AC (2018b) microRNA regulation in an ancient obligate endosymbiosis. *Mol Ecol* 27(8):1777–1793. <https://doi.org/10.1111/mec.14464>
- Finetti L, Benetti L, Leyria J, Civolani S et al (2023) Topical delivery of dsRNA in two hemipteran species: evaluation of RNAi specificity and non-target effects. *Pestic Biochem Physiol* 189:105295. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105295>
- Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA et al (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 391(6669):806–811. <https://doi.org/10.1038/35888>
- Fletcher SJ, Reeves PT, Hoang BT, Mitter NA (2020) A perspective on RNAi-based biopesticides. *Front. Plant Sci* 11:51. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00051>
- Forero D. The systematics of the Hemiptera (2008) *Rev Colomb Entomol* 34(1):1–21. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v34n1/v34n1a01.pdf>
- Green D, Dalmy T, Chapman T (2016) Microguards and micromessengers of the genome. *Heredity* 116 (2): 125–134. doi:10.1038/hdy.2015.84
- Gao Y, Ren R, Peng J, Wang D et al (2021) The gustavus gene can regulate the fecundity of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Front Physiol* 11:596392. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.596392>
- Ghanim M, Kontsedalov S, Czosnek H (2007) Tissue-specific gene silencing by RNA interference in the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Insect Biochem Mol Biol* 37:732–738. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2007.04.006>
- Ghodke AB, Good RT, Golz JF, Russell DA et al (2019) Extracellular endonucleases in the midgut of *Myzus persicae* may limit the efficacy of orally delivered RNAi. *Sci Rep* Aug 15;9(1):1–4. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47357-4>
- Ghosh SK, Hunter WB, Park AL, Gundersen-Rindal DE (2017) Double strand RNA delivery system for plant-sap-feeding insects. *PLoS one* 12(2):e0171861. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171861>
- Gong YH, Yu XR, Shang QL, Shi XY, Gao XW (2014) Oral delivery mediated RNA interference of a carboxylesterase gene results in reduced resistance to organophosphorus insecticides in the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *PLoS one*. 9(8):e102823 2014 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102823>
- Grover S, Jindal V, Banta G, Taning CN et al (2019) Potential of RNA interference in the study and management of the whitefly, *Bemisia tabaci*. *Arch Insect Biochem Physiol* 100(2):e21522. <https://doi.org/10.1002/arch.21522>
- Guo HY, Song XG, Wang GL, Yang K et al (2014) Plant-generated artificial small RNAs mediated aphid resistance. *PLoS One* 9:e97410. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097410>
- Guo Y, Fan Y, Teng Z, Wang L et al (2022) Efficacy of RNA interference using nanocarrier-based transdermal dsRNA delivery system in the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum*. *Arch Insect Biochem Physiol* 110(2):e21888. <https://doi.org/10.1002/arch.21888>
- He C, Liang J, Liu S, Wang S et al (2019) Changes in the expression of four ABC transporter genes in response to imidacloprid in *Bemisia tabaci* Q (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pestic Biochem Physiol* 153:136–143. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.11.014>
- Head GP, Carroll MW, Evans SP, Rule DM et al (2017) Evaluation of SmartStax and SmartStax PRO maize against western corn rootworm and northern corn rootworm: efficacy and resistance management. *Pest Manag Sci*73(9):1883–1899. <https://doi.org/10.1002/ps.4554>
- Hogenhout SA, Bos JI (2011) Effector proteins that modulate plant–insect interactions. *Curr Opin Plant Biol* 14(4):422–428. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.05.003>
- Hunter WB, Glick E, Paldi N, Bextine BR (2012) Advances in RNA interference: dsRNA treatment in trees and grapevines for insect pest suppression. *Southwest Entomol* 37:85–7. <http://dx.doi.org/10.3958/059.037.0110>
- i5K Consortium (2013) The i5K initiative: advancing arthropod genomics for knowledge, human health, agriculture, and the environment. *J Heredity* 104:595–600. <http://doi.org/10.1093/jhered/est050>.
- Ikeno T, Numata H, Goto SG, Shiga S (2014) Involvement of the brain region containing pigment-dispersing factor-immunoreactive neurons in the photoperiodic response of the bean bug, *Riptortus pedestris*. *J Exp Biol* 217:453–462. <https://doi.org/10.1242/jeb.091801>

- Jain RG, Robinson KE, Asgari S, Mitter N (2021) Current scenario of RNAi-based hemipteran control. *Pest Manag Sci* 77(5):2188–96. <https://doi.org/10.1002/ps.6153>
- Jain RG, Robinson KE, Fletcher SJ, Mitter N (2020) RNAi-based functional genomics in Hemiptera. *Insects* 11(9):557. <http://doi.org/10.3390/insects11090557>
- Jaubert-Possamai S, Le Trionnaire G, Bonhomme J, Christophides GK et al (2007) Gene knockdown by RNAi in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *BMC biotechnol* 7(1):1–8. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-7-63>
- Jockusch EL, Fisher CR (2021) Something old, something new, something borrowed, something red: the origin of ecologically relevant novelties in Hemiptera. *Curr Opin Genet Dev* 69:154–62. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2021.04.003>
- Joga MR, Zotti MJ, Smagge G, Christiaens O (2016) RNAi efficiency, systemic properties, and novel delivery methods for pest insect control: what we know so far. *Front Physiol* 7:553. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00553>
- Kaloshian I, Walling LL (2016) Hemipteran and dipteran pests: effectors and plant host immune regulators. *J Integr Plant Biol* 58(4):350–61. <https://doi.org/10.1111/jipb.12438>
- Kanakala S, Kotsedalov S, Lebedev G, Ghanim M (2019) Plant-mediated silencing of the whitefly *Bemisia tabaci* cyclophilin B and heat shock protein 70 impairs insect development and virus transmission. *Front Physiol* 10:557. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00557>
- Karabowicz J, Długosz E, Baska P, Wiśniewski M (2022) Nematode orthologs of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as modulators of the host immune response and potential therapeutic targets. *Pathogens* 11(2):258. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020258>
- Khajuria C, Ivashuta S, Wiggins E, Flagel L et al (2018) Development and characterization of the first dsRNA-resistant insect population from western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *PLoS One* 13:e0197059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197059>
- Khan AM, Ashfaq M, Khan AA, Naseem et al (2018) Evaluation of potential RNA-interference-target genes to control cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Insect Sci* 25:778–786. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12455>
- Khan AM, Ashfaq M, Khan AA, Rasool A et al (2015) Inoculation of *Nicotiana tabacum* with recombinant potato virus X induces RNA interference in the solenopsis mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Biotechnol Lett* 37:2083–2090. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1880-7>
- Khan AM, Ashfaq M, Kiss Z, Khan AA et al. (2013) Use of recombinant tobacco mosaic virus to achieve RNA interference in plants against the citrus mealybug, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae). *PLoS One* 8(9):e73657. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073657>
- Killiny N, Hajeri S, Tiwari S, Gowda S, Stelinski LL (2014) Double-stranded RNA uptake through topical application, mediates silencing of five CYP4 genes and suppresses insecticide resistance in *Diaphorina citri*. *PLoS one* 9(10):e110536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110536>
- Konarev AV, Beaudoin F, Marsh J, Vilcova NA et al (2011) Characterization of a glutenin-specific serine proteinase of Sunn bug *Eurygaster integriceps* Put. *J Agric Food Chem* 59(6):2462–2470. <https://doi.org/10.1021/jf103867g>
- Konarev A, Dolgikh V, Senderskiy I, Konarev A, Kapustkina A, Lovegrove A (2019) Characterisation of proteolytic enzymes of *Eurygaster integriceps* Put. (Sunn bug), a major pest of cereals. *J Asia Pac Entomol* 22(1):379–385. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.001>
- Kostal V, Tollarova-Borovanska M (2009) The 70 kDa heat shock protein assists during the repair of chilling injury in the insect, *Pyrrhocoris apterus*. *PLoS One* 4:e4546. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004546>
- Kotwica-Rolinska J, Pivarciova L, Vaneckova H, Dolezel D (2017) The role of circadian clock genes in the photoperiodic timer of the linden bug *Pyrrhocoris apterus* during the nymphal stage. *Physiol Entomol* 42:266–273. <https://doi.org/10.1111/phen.12197>
- Kumar S, Nehra M, Dilbaghi N, Marrazza Get al (2019) Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture. *J. Control. Release* 294:131–153. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.012>
- Kunieda T, Fujiyuki T, Kucharski R, Foret S, et al (2006) Carbohydrate metabolism genes and pathways in insects: insights from the honeybee genome. *Insect Mol Biol* 15(5):563–576. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00677.x>
- Kunte N, McGraw E, Bell S, Held D, Avila LA (2020) Prospects, challenges and current status of RNAi through insect feeding. *Pest Manag Sci* 76(1):26–41. <https://doi.org/10.1002/ps.5588>
- Leonard SP, Powell JE, Perutka J, Geng P et al (2020) Engineered symbionts activate honey bee immunity and limit pathogens. *Science* 367:573–576. DOI: 10.1126/science.aax9039.
- Li H, Guan R, Guo H, Miao X (2015) New insights into an RNAi approach for plant defence against piercing-sucking and stem-borer insect pests. *Plant Cell Environ* 38(11):2277–2285. <https://doi.org/10.1111/pce.12546>
- Li X, Qu MJ, Zhang Y, Li JW, Liu TX (2018) Expression of neuropeptide F gene and its regulation of feeding behavior in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Front Physiol* 9:87. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00087>
- Li Y, Park H, Smith TE, Moran NA (2019) Gene family evolution in the pea aphid based on chromosome-level genome assembly. *Mol Biol Evol* 36(10):2143–156. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz138>
- Lisei-de-Sá ME, Rodrigues-Silva PL, Morgante CV, de Melo BP et al (2021) Pyramiding dsRNAs increases phytonematode tolerance in cotton plants. *Planta*. 254(6):1–4. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03776-0>
- Liu F, Yang B, Zhang A, Ding D, Wang G (2019) Plant-mediated RNAi for controlling *Apolygus lucorum*. *Front Plant Sci* 10:64. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00064>
- Liu FH, Kang ZW, Tan XL et al (2020) Physiology and defense responses of wheat to the infestation of different cereal aphids. *J Integr Agric* 19(6):1464–74. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62786-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62786-3)
- Lou YH, Lu JB, Li DT, Ye YX et al (2019) Amelogenin domain-containing NiChP38 is necessary for normal ovulation in the brown planthopper. *Insect Mol Biol* 28(5):605–615. <https://doi.org/10.1111/imb.12576>

- Mamta B, Rajam MV (2017) RNAi technology: a new platform for crop pest control. *Physiol Mol Biol Plants* 23(3):487–501. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0443-x>
- Mano G, Goto SG (2022) Photoperiod controls insulin and juvenile hormone signaling pathways via the circadian clock in the bean bug *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae). *Appl Entomol Zool* 57(4):363–377. <https://doi.org/10.1007/s13355-022-00795-5>
- Manzano-Marin A, Coeur d'acier A, Clamens AL, Orvain C (2020) Serial horizontal transfer of vitamin-biosynthetic genes enables the establishment of new nutritional symbionts in aphids' di-symbiotic systems. *ISME*, 14(1):259–2573. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0533-6>
- Mao J, Zeng F (2012) Feeding-based RNA interference of a gap gene is lethal to the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS One*;7:e48718. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048718>.
- Matsumoto Y, Hattori M (2018) The green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* (Hemiptera: Cicadellidae), salivary protein NcSP75 is a key effector for successful phloem ingestion. *PLoS One* 13(9): e0202492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202492>
- McAllan JW, Adams JB (1961) The significance of pectinase in plant penetration by aphids. *Can J Zool* 39(3):305–10. <https://doi.org/10.1139/z61-034>
- Mehlhorn S, Hunnekühl VS, Geibel S, Nauen R et al (2021) Establishing RNAi for basic research and pest control and identification of the most efficient target genes for pest control: a brief guide. *Front Zool* 18:60. <https://doi.org/10.1186/s12983-021-00444-7>
- Miller SC, Miyata K, Brown SJ, Tomoyasu Y (2012) Dissecting systemic RNA interference in the red flour beetle *Tribolium castaneum*: parameters affecting the efficiency of RNAi. *PLoS One* 7:e47431. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047431>.
- Mishra R, Arora AK, Jimenez J, Tavares CS (2022) Bacteria-derived pesticidal proteins active against hemipteran pests. *J Invertebr Pathol* 13:107834. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2022.107834>
- Mogilicherla K, Howell JL, Palli SR (2018) Improving RNAi in the brown marmorated stink bug: identification of target genes and reference genes for RT-qPCR. *Sci rep* 8(1):1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22035-z>
- Moriyama M and Fukatsu T (2022) Host's demand for essential amino acids is compensated by an extracellular bacterial symbiont in a hemipteran insect model. *Front Physiol* 13:1028409 <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1028409>
- Mutti NS, Louis J, Pappan LK, Pappan K et al (2008) A protein from the salivary glands of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, is essential in feeding on a host plant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(29): 9965–9969. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708958105>
- Mutti NS, Park Y, Reese JC, Reeck GR (2006) RNAi knockdown of a salivary transcript leading to lethality in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *J Insect Sci* 6:1–7. <https://doi.org/10.1673/031.006.3801>
- Nakabachi A (2015) Horizontal gene transfers in insects. *Curr Opin Insect Sci* 7:24–9. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.03.006>
- Naessens E, Dubreuil G, Giordanengo P, Baron OL et al (2015) secreted MIF cytokine enables aphid feeding and represses plant immune responses. *Curr Biol* 25(14):1898–903. DOI: 10.1016/j.cub.2015.05.047
- Nalam V, Louis J, Shah J. (2019) Plant defense against aphids, the pest extraordinaire. *Plant Sci* 279:96–107. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.04.027>
- Ni M, Ma W, Wang X, Gao M et al (2017) Next-generation transgenic cotton: pyramiding RNAi and Bt counters insect resistance. *Plant Biotechnol J* 15:1204–1213. <https://doi.org/10.1111/pbi.12709>
- Nikoh N, Nakabachi A (2009) Aphids acquired symbiotic genes via lateral gene transfer. *BMC Biol* 7: 12. <http://doi.org/10.1186/1741-7007-7-12>
- Niu J, Yang WJ, Tian Y, Fan JY et al (2019) Topical dsRNA delivery induces gene silencing and mortality in the pea aphid. *Pest Manag Sci* 75(11):2873–2881. <https://doi.org/10.1002/ps.5457>
- Oliveira DS, Brito NF, Franco TA, Moreira MF et al (2018) Functional characterization of odorant binding protein 27 (RproOBP27) from *Rhodnius prolixus* antennae. *Front Physiol* 9:1175. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01175>
- Oliver KM, Degnan PH, Burke GR, Moran NA (2010). Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annu Rev Entomol* 55:247–652 266. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-112408-085305>
- Omar MAA, Ao Y, Li M, He K et al (2019) The functional difference of eight chitinase genes between male and female of the cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis*. *Insect Mol Biol* 28:550–567. <https://doi.org/10.1111/imb.12572>
- O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C (2018) Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol* 9:402. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
- Paim RM, Araujo RN, Lehane MJ, Gontijo NF et al (2013) Long-term effects and parental RNAi in the blood feeder *Rhodnius prolixus* (Hemiptera; Reduviidae). *Insect Biochem Mol Biol* 43(11):1015–20. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.08.008>
- Paim RM, Nascimento BW, Nascimento AM, Pacheco DE et al (2017) Functional aspects of salivary nitric oxide synthase of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) and nitric oxide trafficking at the vector-host interface. *Sci Rep* 7(1):16036. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16097-8>
- Parker BJ, Brisson JA (2019) A laterally transferred viral gene modifies aphid wing plasticity. *Curr Biol* 29(12):2098–2103. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.05.041>
- Peres AL, Coletta RD, Soares JS, Menossi M et al (2022) Gene Silencing Using Artificial miRNA in Sugarcane. *Trop Plant Biol*. 25:1–0. <https://doi.org/10.1007/s12042-022-09313-x>
- Perier JD, Cremonez PS, Champagne DE, Simmons AM, Riley DG (2022) Whiteflies at the intersection of polyphagy and insecticide resistance. *Ann Entomol Soc Am* 115(6):401–416. <https://doi.org/10.1093/aesa/saac008>
- Pridgeon JW, Zhao L, Becnel JJ, Strickman DA et al (2008) Topically applied *AaeIAP1* double-stranded RNA kills female adults of *Aedes aegypti*. *J Med Entomol*; 45:414–20. <http://doi.org/10.1093/jmedent/45.3.414>.
- Ran Z, Shi X, Han F, Li J et al (2018) Expressing microRNA bantam sponge drastically improves the insecticidal activity of baculovirus via increasing the level of ecdysteroid hormone in *Spodoptera exigua* larvae. *Front Microbiol* 9:1824. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01824>

- Rauf I, Asif M, Amin I, Naqvi RZ et al (2019) Silencing cathepsin L expression reduces *Myzus persicae* protein content and the nutritional value as prey for *Coccinella septempunctata*. *Insect Mol Biol* 28(6):785–797. <https://doi.org/10.1111/imb.12589>
- Rausch MA, Chougule NP, Deist BR, Bonning BC (2016) Modification of Cry4Aa toward Improved Toxin Processing in the Gut of the Pea Aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS One* 11(5): e0155466. doi:10.1371/journal.pone.0155466
- Ray S, Casteel CL (2022) Effector-mediated plant–virus–vector interactions. *The Plant Cell* 34(5):1514–1531. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac058>
- Rispe C, Legeai F, Nabity PD, Fernández R et al (2020) The genome sequence of the grape phylloxera provides insights into the evolution, adaptation, and invasion routes of an iconic pest. *BMC Biol* 18(1):1–25. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00820-5>
- Salcedo-Porras N, Guarneri A, Oliveira PL, Lowenberger C (2019) *Rhodnius prolixus*: Identification of missing components of the IMD immune signaling pathway and functional characterization of its role in eliminating bacteria. *PLoS One* 14(4):e0214794. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214794>
- Sandstrom J, Moran N (1999) How nutritionally imbalanced is phloem sap for aphids? *Entomol Exp Appl* 91(1):203–210. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00485.x>
- Saurabh S, Mishra M, Rai P, Pandey R (2021) Tiny Flies: A mighty pest that threatens agricultural productivity—a case for next-generation control strategies of whiteflies. *Insects* 12(7):585. <https://doi.org/10.3390/insects12070585>
- Saurabh S, Vidyarthi AS, Prasad D (2014). RNA interference: concept to reality in crop improvement. *Planta* 239 (3): 543–64. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-2019-5>
- Schwab R, Ossowski S, Riester M, Warthmann N, Weigel D (2006) Highly specific gene silencing by artificial microRNAs in Arabidopsis. *Plant Cell* 18(5):1121–1133. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.039834>
- Semeraro L, Fletcher MJ, Malipatil MB, Constant J et al (2021) Revision of a unique Australian leafhopper genus *Stenopsoides* Evans (Hemiptera: Cicadellidae: Idiocerinae: Macropsini). *Zootaxa* 4999(2):117–131. <https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.4999.2.2>
- Shakesby AJ, Wallace IS, Isaacs HV, Pritchard J et al (2009) A water-specific aquaporin involved in aphid osmoregulation. *Insect Biochem Mol Biol* 39(1):1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.08.008>
- Shang F, Niu J, Ding BY, Zhang Q, et al (2018) Vitellogenin and its receptor play essential roles in the development and reproduction of the brown citrus aphid, *Aphis (Toxoptera) citricidus*. *Insect Mol Biol* 27(2):221–233. <https://doi.org/10.1111/imb.12366>
- Shang F, Ding BY, Ye C, Yang L et al (2020) Evaluation of a cuticle protein gene as a potential RNAi target in aphids. *Pest Manag Sci* 76(1):134–140. <https://doi.org/10.1002/ps.5599>
- Shang F, Ding BY, Xiong Y, Dou W, Wei D, Jiang HB et al (2016) Differential expression of genes in the alate and apterous morphs of the brown citrus aphid, *Toxoptera citricida*. *Sci Rep* 6:srep32099. <https://doi.org/10.1038/srep32099>
- Shapoval NA, Nokkala S, Nokkala C, Kufina GN et al (2021) The incidence of Wolbachia bacterial endosymbiont in bisexual and parthenogenetic populations of the Psyllid genus *Cacopsylla* (Hemiptera, Psylloidea). *Insects* 12(10):853. <https://doi.org/10.3390/insects12100853>
- Shelby EA, Moss JB, Andreason SA, Simmons AM et al (2020) Debugging: Strategies and considerations for efficient RNAi-mediated control of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Insects* 11(11):723. <https://doi.org/10.3390/insects11110723>
- Shukla A, Upadhyay S, Mishra M, Saurabh SR et al (2016) Expression of an insecticidal fern protein in cotton protects against whitefly. *Nat Biotechnol* 34:1046–1051. <https://doi.org/10.1038/nbt.3665>
- Silva-Sanzana C, Estevez JM, Blanco-Herrera F (2020) Influence of cell wall polymers and their modifying enzymes during plant–aphid interactions. *J Exp Bot* 71(13):3854–3864. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz550>
- Silver K, Cooper AM, Zhu KY (2021) Strategies for enhancing the efficiency of RNA interference in insects. *Pest Manag Sci* 77(6):2645–2658. <https://doi.org/10.1002/ps.6277>
- Singh IK, Singh S, Mogilicherla K, Shukla JN et al (2017) Comparative analysis of double-stranded RNA degradation and processing in insects. *Sci Rep* 7:17059. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17134-2>
- Singh S, Gupta M, Pandher S, Kaur G et al (2018) Selection of housekeeping genes and demonstration of RNAi in cotton leafhopper, *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida). *PLoS One* 13:e0191116. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191116>
- Song N, Zhang H, Zhao T (2019) Insights into the phylogeny of Hemiptera from increased mitogenomic taxon sampling. *Mol Phylogenet Evol* 137:236–49. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.05.009>
- Sorensen JT (2009). Aphids. In: Resh VH, Cardé RT (eds) *Encyclopedia of Insects* (2 ed.). Academic Press. 27–31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00008-4>
- Soucy SM, Huang J, Gogarten JP (2015) Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet* 16(8):472–82. <https://doi.org/10.1038/nrg3962>
- Souza D, Christensen SA, Wu K, Buss L et al (2022) RNAi-induced knockdown of *white* gene in the southern green stink bug (*Nezara viridula* L.). *Sci Rep* 12:10396. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14620-0>
- Sparks ME, Bansal R, Benoit JB, Blackburn MB et al (2020) Brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål), genome: putative underpinnings of polyphagy, insecticide resistance potential and biology of a top worldwide pest. *BMC Genomics* 21(1):1–26. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6510-7>
- Sparks ME, Shelby KS, Kuhar D, Gundersen-Rindal DE (2014) Transcriptome of the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål) (Heteroptera: Pentatomidae). *PLoS one*. Nov 11;9(11):e111646.
- Sugahara R, Minaba M, Jouraku A, Kotaki et al (2016) Characterization of two adenine nucleotide translocase paralogues in the stink bug, *Plautia stali*. *J Pestic Sci* 41:44–48. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D15-080>
- Sun CX, Li ZX (2021). Biosynthesis of aphid alarm pheromone is modulated in response to starvation stress under regulation by the insulin, glycolysis and isoprenoid pathways. *J Insect Physiol*. 128:104174. <http://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104174>.

- Sun Y, Sparks C, Jones H, Riley M et al (2019) Silencing an essential gene involved in infestation and digestion in grain aphid through plant-mediated RNA interference generates aphid-resistant wheat plants. *Plant Biotechnol J* 17(5):852. <http://doi.org/10.1111/pbi.13067>
- Sun ZJ, Li ZX (2018) The terpenoid backbone biosynthesis pathway directly affects the biosynthesis of alarm pheromone in the aphid. *Insect Mol Biol* 27(6):824–834. <https://doi.org/10.1111/imb.12521>
- Tamborindeguy C, Bereman MS, DeBlasio S, Igwe D et al (2013) Genomic and proteomic analysis of *Schizaphis graminum* reveals cyclophilin proteins are involved in the transmission of cereal yellow dwarf virus. *PLoS One* 8(8):e71620. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0071620>
- Tandon A, Singh SJ, Chaturvedi RK (2021) Nanomedicine against Alzheimer's and Parkinson's disease. *Curr Pharm Des* 27(12):1507–45. <https://doi.org/10.2174/1381612826666201021140904>
- Thairu MW, Skidmore IH, Bansal R, Nováková E et al (2017) Efficacy of RNA interference knockdown using aerosolized short interfering RNAs bound to nanoparticles in three diverse aphid species. *Insect Mol Biol* 26(3):356–368. <https://doi.org/10.1111/imb.12301>
- Thakur N, Munday JK, Upadhyay SK (2016) RNAi- Implications in entomological research and pest control. In: Abdurakhmonov, I.Y., Ed. RNA Interference Rijeka, Croatia: InTech. 341–369 <http://doi.org/10.5772/61814>
- Thompson MC, Feng H, Wuchty S, Wilson AC (2019) The green peach aphid gut contains host plant microRNAs identified by comprehensive annotation of *Brassica oleracea* small RNA data. *Sci Rep* 9:18904. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54488-1>
- Tian L, Zeng Y, Xie W, Wu Q (2019) Genome-wide identification and analysis of genes associated with RNA interference in *Bemisia tabaci*. *Pest Manag Sci* 75(11):3005–3014. <https://doi.org/10.1002/ps.5415>
- Tomoyasu Y, Miller SC, Tomita S, Schoppmeier M et al (2008) Exploring systemic RNA interference in insects: a genome-wide survey for RNAi genes in *Tribolium*. *Genome Biol* 9:R10. <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-1-r10>
- Tzin V, Yang X, Jing X, Zhang K et al (2015) RNA interference against gut osmoregulatory genes in phloem-feeding insects. *J Insect Physiol* 79:105–112. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.06.006>
- van Emden HF, Wild EA (2020) A fully defined artificial diet for *Myzus persicae* – the detailed technical manual. *Entomol Exp Appl* 168(6–7):582–6. <https://doi.org/10.1111/eea.12917>
- Vaucheret H, Chupeau Y (2012) Ingested plant miRNAs regulate gene expression in animals. *Cell research* 22(1):3–5. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.164>
- Villarreal CA, González-González A, Alvarez-Baca JK, Villarreal P et al (2022) Genome sequencing of a predominant clonal lineage of the grain aphid *Sitobion avenae*. *Insect Biochem Mol Biol* 2022 143:103742. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.103742>
- Vogel E, Santos D, Mingels L, Verdonckt TW et al (2019) RNA interference in insects: protecting beneficials and controlling pests. *Front Physiol* 9:1912. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01912>
- Walker WB, Allen ML (2011) RNA interference-mediated knockdown of IAP in *Lygus lineolaris* induces mortality in adult and pre-adult life stages. *Entomol Exp Appl* 138:83–92. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2010.01078.x>
- Wang G, Gou Y, Guo S, Zhou JJ, Liu C (2021) RNA interference of trehalose-6-phosphate synthase and trehalase genes regulates chitin metabolism in two color morphs of *Acyrtosiphon pisum* Harris. *Sci Rep* 11:1–12. <http://doi.org/10.1038/s41598-020-80277-2>
- Wang K, Peng Y, Pu J, Fu W et al (2016) Variation in RNAi efficacy among insect species is attributable to dsRNA degradation *in vivo*. *Insect Biochem Mol Biol* 77:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2016.07.007>
- Wang SY, Li BL, Zhang DY (2019) NICYP4G76 and NICYP4G115 modulate susceptibility to desiccation and insecticide penetration through affecting cuticular hydrocarbon biosynthesis in *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Front Physiol* 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00913>
- Wang W, Wan P, Lai F, Zhu T, Fu Q (2018) Double-stranded RNA targeting calmodulin reveals a potential target for pest management of *Nilaparvata lugens*. *Pest Manag Sci* 74:1711–1719. <https://doi.org/10.1002/ps.4865>
- Waqas MS, Shi Z, Yi TC, Xiao R et al (2021) Biology, ecology, and management of cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Pest Manag Sci* (12):5321–5333. <https://doi.org/10.1002/ps.6565>
- Waris MI, Younas A, Ul Qamar MT, Hao L et al (2018) Silencing of chemosensory protein gene NlugCSP8 by RNAi induces declining behavioral responses of *Nilaparvata lugens*. *Front Physiol* 9:379. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00379>
- Whitten MMA, Facey PD, Del Sol R, Fernández-Martínez LT et al (2016) Symbiont-mediated RNA interference in insects. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 283:20160042. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0042>
- Whyard S, Singh AD, Wong S (2009) Ingested double-stranded RNAs can act as species-specific insecticides. *Insect Biochem Mol Biol* 39(11):824–832. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2009.09.007>
- Will T, Vilcinskis A (2015) The structural sheath protein of aphids is required for phloem feeding. *Insect Biochem Mol Biol* 57:34–40. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.12.005>
- Winston WM, Sutherlin M, Wright AJ, Feinberg EH, Hunter CP (2007) *Caenorhabditis elegans* SID-2 is required for environmental RNA interference. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:10565–10570. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611282104>
- Wu Z, Yang L, He Q, Zhou S (2021) Regulatory mechanisms of vitellogenesis in insects. *Front Cell Dev Biol* 8:593613. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.593613>
- Wybouw N, Pauchet Y, Heckel DG, Van Leeuwen T (2016) Horizontal gene transfer contributes to the evolution of arthropod herbivory. *Genome Biol Evo* 8(6):1785–1801. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw119>
- Xiao D, Lu YH, Shang Q, Song DL, Gao X (2014) Gene silencing of two acetylcholinesterases reveals their cholinergic and non-cholinergic functions in *Rhopalosiphum padi* and *Sitobion avenae*. *Pest Manag Sci* 71:523–530. <https://doi.org/10.1002/ps.3800>
- Xu HJ, Chen T, Ma XF, Xue J et al (2013) Genome-wide screening for components of small interfering RNA



- (siRNA) and micro-RNA (miRNA) pathways in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Insect Mol Biol* 22:635–647. <https://doi.org/10.1111/imb.12051>
- Xu HX, Qian LX, Wang XW, Shao RX (2019a) A salivary effector enables whitefly to feed on host plants by eliciting salicylic acid-signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(2):490–495. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714990116>
- Xu L, Duan X, Lv Y, Zhang X et al (2014) Silencing of an aphid carboxylesterase gene by use of plant-mediated RNAi impairs *Sitobion avenae* tolerance of Phoxim insecticides. *Transgenic Res* 23(2):389–396. <https://doi.org/10.1007/s11248-013-9765-9>
- Xu L, Hou Q, Zhao Y, Lu L et al (2017) Silencing of a lipase maturation factor 2 like gene by wheat-mediated RNAi reduces the survivability and reproductive capacity of the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Arch Insect Biochem Physiol* 95(3):e21392. <https://doi.org/10.1002/arch.21392>
- Xu P, Lu B, Liu J, Chao J, Donkersley P, Holdbrook R, Lu Y (2019b) Duplication and expression of horizontally transferred polygalacturonase genes is associated with host range expansion of mirid bugs. *BMC Evol Biol* 19(1):1–9. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1351-1>
- Yates AD, Michel A (2018) Mechanisms of aphid adaptation to host plant resistance. *Curr Opin Insect Sci* 26:41–9. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.01.003>
- Yates-Stewart AD, Daron J, Wijeratne S, Shahid S et al (2020) Soybean aphids adapted to host-plant resistance by down regulating putative effectors and up regulating transposable elements. *Insect Biochem Mol Biol* 121:103363. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2020.103363>
- Ye C, Hu XS, Wang ZW, Wei D et al (2021) Involvement of clathrin-dependent endocytosis in cellular dsRNA uptake in aphids. *Insect Biochem Mol Biol* 132:103557. <http://doi.org/10.1016/j.ibmb.2021.103557>
- Ye C, Jiang YD, An X, Yang L et al (2019) Effects of RNAi-based silencing of chitin synthase gene on moulting and fecundity in pea aphids (*Acyrtosiphon pisum*) *Sci Rep* 9:1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39837-4>
- Yoon JS, Tian HG, McMullen II JG, Chung SH et al (2020) Candidate genetic determinants of intraspecific variation in pea aphid susceptibility to RNA interference. *Insect Biochem Mol Biol* 123:103408. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2020.103408>
- Yu N, Christiaens O, Liu J, Niu J et al (2013) Delivery of dsRNA for RNAi in insects: An overview and future directions. *Insect Sci* 20:4–14. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2012.01534.x>
- Yu XD, Liu ZC, Huang SL, Chen ZQ et al. (2016). RNAi-mediated plant protection against aphids. *Pest Management Science*, 72(6):1090–1098. <http://doi.org/doi:10.1002/ps.4258>
- Zhang BZ, Ma KS, Liu JJ, Lu LY et al (2019) Differential expression of genes in greenbug (*Schizaphis graminum* Rondani) treated by imidacloprid and RNA interference. *Pest Manag Sci* 75(6):1726–1733. <https://doi.org/10.1002/ps.5293>
- Zhang H, Li HC, Miao XX (2013) Feasibility, limitation and possible solutions of RNAi-based technology for insect pest control. *Insect Sci* 20:15–30. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2012.01513.x>
- Zhang J, Khan SA, Hasse C, Ruf S et al (2015) Full crop protection from an insect pest by expression of long double-stranded RNAs in plastids. *Science* 347(6225):991–994. <http://doi.org/10.1126/science.1261680>
- Zhang J, Li H, Zhong X, Tian J et al (2022a) RNA-Interference-Mediated Aphid Control in Crop Plants: A Review. *Agriculture* 12(12):2108. <https://doi.org/10.3390/agriculture12122108>
- Zhang Y, Jia FA, Sun JR, Chen JL (2015) Cloning and RNA interference analysis of the salivary protein C002 gene in *Schizaphis graminum*. *J Integr Agric* 14(4):698–705. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60822-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60822-4)
- Zhang Y, Liu X, Francis F, Xie H et al (2022b) The salivary effector protein Sg2204 in the greenbug *Schizaphis graminum* suppresses wheat defence and is essential for enabling aphid feeding on host plants. *Plant Biotechnol J* 20(11):2187–2201. <http://doi.org/10.1111/pbi.13900>
- Zhang Y, Liu X, Fu Y, Crespo-Herrera L et al (2022c) Salivary effector Sm9723 of grain aphid *Sitobion miscanthi* suppresses plant defense and is essential for aphid survival on wheat. *Int J Mol Sci* 23(13):6909. <https://doi.org/10.3390/ijms23136909>
- Zheng Y, Hu Y, Yan S, Zhou H et al (2019) A polymer/detergent formulation improves dsRNA penetration through the body wall and RNAi-induced mortality in the soybean aphid *Aphis glycines*. *Pest Manag Sci* 75(7):1993–1999. <https://doi.org/10.1002/ps.5313>
- Zhao Y, Cong L, Lukiw WJ (2018) Plant and animal microRNAs (miRNAs) and their potential for inter-kingdom communication. *Cell Mol Neurobiol* 38:133–140. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0547-4>
- Zust T, Agrawal A. A. (2016). Mechanisms and evolution of plant resistance to aphids. *Nat. Plants* 2, 16206. <http://doi.org/10.1038/nplants.2015.206>
- Zyla D, Homan A, Wegierek P (2017) Polyphyly of the extinct family Oviparosiphidae and its implications for inferring aphid evolution (Hemiptera, Sternorrhyncha). *PLoS One* 12(4):e0174791. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0174791>

#### Translation of Russian References

- Dolgikh VV, Senderskii IV, Konarev AV (2014) Production and properties of recombinant glutenin-hydrolyzing proteinases from *Eurygaster integriceps* Put. *Appl Biochem Microbiol* 50:433–440. <https://doi.org/10.1134/S0003683814040048>
- Zhuravlyov V, Dolgikh V, Timofeev S, Gannibal F (2022) RNA interference method in plant protection against insect pests. *Plant Protection News* 105(1): 28–39. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-1-15219> (In Russian)
- Karpun NN, Borisov BA, Zhuravleva EN, Borisova IP et al (2022) [Range expansion and increasing damage potential of phytophagous shield bugs (Heteroptera: Pentatomidae) (review)] *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* 57(3):542–554. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2022.3.542rus>
- Maksimov IV, Shein MY, Burkhanova GF (2021) RNA interference in plant defense systems. *Russian Journal of*

Plant Physiology 68(4):613–625. <https://doi.org/10.1134/S1021443721030134>  
 Radchenko EE (2017) Aphid resistance in potato. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 21(1):74–82. <https://doi.org/10.18699/VJ17.225> (In Russian)

S.Yu. Sinev (2013) [System of the class Insecta: an overview of modern concepts]. *Trudy Zoologicheskogo instituta RAN* 317(S2):155–173. [https://elibrary.ru/download/elibrary\\_23150304\\_95801522.pdf](https://elibrary.ru/download/elibrary_23150304_95801522.pdf) (In Russian)

*Plant Protection News*, 2023, 106(1), p. 26–48

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2023-106-1-15625>

**Full-text review**

## RNA INTERFERENCE IN THE STUDY OF GENE FUNCTIONS IN APHIDS AND OTHER HEMIPTERANS AND THE FIGHT AGAINST THEIR HARMFUL REPRESENTATIVES

A.V. Konarev

*All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: alv-konarev@yandex.ru*

RNA interference (RNAi) is an important mechanism that protects cells of eukaryotic organisms from foreign genetic information and regulates physiological processes. Discovery of RNAi and development of the methods for targeted suppression of the expression of individual genes have opened up wide opportunities for elucidating gene functions and solving many problems in biology, medicine, and plant protection. This approach can contribute to the development of new effective, highly specific, and environmentally safe ways to control harmful insects. Several examples of the practical use of RNAi for combating chewing pests have been already reported. Due to their biology, phloem-feeding, as well as the ways of delivering genetic constructs into the body, RNAi in insects with piercing-sucking mouthparts – aphids, bugs, and other hemipterans – deserves separate consideration. This review discusses the criteria for selecting target genes and the issues of their functional activity solved by RNAi, methods for delivering double-stranded and small RNAs to organisms of various Hemiptera, the non-target effects of RNAi and the ways to prevent them, as well as possible practical outcomes of using this approach to control hemipteran pests of agricultural plants and vectors of dangerous human and animal diseases.

**Keywords:** Hemiptera, aphids, RNA interference, gene silencing, pests, plant protection, disease vectors

*Submitted: 23.01.2023*

*Accepted: 23.03.2023*

## СКРИНИНГ БИОРЕСУРСОВ НАСЕКОМЫХ И КЛЕЩЕЙ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ВРЕДИТЕЛЕЙ В ЗАЩИЩЕННОМ ГРУНТЕ

Н.А. Белякова\*, В.А. Павлюшин

*Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург*

\* *ответственный за переписку, e-mail: biocontrol@vizr.spb.ru*

Особенности современных технологий тепличного растениеводства приводят к усложнению критериев отбора энтомофагов, повышаются требования к их адаптационным способностям, возможностям высоко рентабельного масштабируемого производства, длительного хранения и транспортировки. При колонизации в теплицах эффективны преимущественно виды-рудералы, которые способны максимально быстро начать размножение при появлении очагов вредителя. Эти хищники, как правило, производят избыточное потомство, для которого имеющихся пищевых ресурсов заведомо недостаточно. Тем самым они разрушают популяции своих жертв и поэтому могут быть весьма эффективны для подавления всплеск размножения вредителей, по крайней мере, в краткосрочной перспективе. Для долгосрочной колонизации энтомофагов скорость потребления биомассы в системе хищник-жертва в среднем не должна превышать скорости прироста популяции жертвы. В этом случае энтомофаги удерживают вредителя на определенном уровне плотности в течение длительного времени. Однако данный уровень не обязательно будет ниже порога ЭПВ, то есть виды из числа «разумных» пользователей пищевых ресурсов необязательно будут эффективны в защите растений. Регулярные инвазии новых фитофагов оказывают влияние на системы защиты растений. При этом программы по интродукции новых энтомофагов остановлены из-за потенциального негативного влияния видов-интродуцентов на биоразнообразие местных видовых сообществ. Анализ изменений в методологии скрининга энтомофагов, произошедших в результате внедрения новых технологий растениеводства и усложнения фитосанитарной ситуации, посвящён представленный обзор.

**Ключевые слова:** энтомофаги, превентивная колонизация, сезонная колонизация, классический биоконтроль, жизненные стратегии, массовое разведение, резистентность

*Поступила в редакцию: 11.11.2022*

*Принята к печати: 07.04.2022*

### Введение

В наше время для биологического контроля вредителей используются по разным данным от 250 до 412 видов насекомых и клещей. Из них не менее 100 видов предназначены для колонизации в теплицах. В течение последних десятилетий значительно увеличились объемы применения энтомофагов именно в тепличных агроценозах (van Lenteren et al., 2018, 2021). Это обусловлено целым рядом преимуществ, которые дает применение энтомофагов в защищенном грунте. На первом месте – высокая биологическая эффективность энтомофагов за счет изоляции от окружающей среды и стабильного искусственного климата, который обеспечивают индустриальные теплицы последнего поколения Ultra Clima (Truffault et al., 2018; Dolgikh et al., 2019). Второй по значимости фактор, движущий развитие биологического контроля в защищенном грунте – резистентность вредителей к пестицидам, которая в теплицах формируется в десятки раз быстрее, чем в открытом грунте. Поэтому применение химических препаратов в теплицах ограничено, особенно на многолетних посадках цветочно-декоративных культур (Poletti, Omoto, 2012; Daughtrey, Buitenhuis, 2020).

Применение энтомофагов, в том числе устойчивых к пестицидам, обеспечивает защитный эффект там, где препараты уже не эффективны. При этом уровень резистентности в популяциях вредителей снижается за счет

сокращения кратности обработок (Zhao et al., 2013; Dáder et al., 2020).

Среди важных преимуществ биологического контроля вредителей следует назвать повышение качества растениеводческой продукции. Отсутствие остаточных количеств пестицидов в готовой продукции – необходимое условие при выращивании тепличных овощей, особенно зеленных культур, которые используются в пищу в сыром виде. Энтомофаги безопасны для людей и животных, в том числе насекомых-опылителей, которые обеспечивают высокую урожайность пчелоопыляемых сортов и гибридов (Король, 2019; Nayak et al., 2020; Abrol et al., 2021).

Во многом росту объемов применения энтомофагов в теплицах способствовало появление автоматизированного оборудования, предназначенного для широкомасштабного расселения агентов биологического контроля (Buitenhuis et al., 2010; Lanzoni et al., 2017; Para et al., 2018). Снижение трудозатрат на производство энтомофагов также стимулировало их широкое использование. Коммерческая доступность широкого ассортимента энтомофагов на мировом рынке средств защиты растений определяется наличием стабильных и рентабельных систем массового разведения, обеспечивающих крупномасштабное круглогодичное производство энтомофагов на уровне 10–100 млн. особей еженедельно (van Lenteren et al., 2018, 2021).

И наконец, существенным фактором активного развития биологической защиты в теплицах выступает значительная стоимость сохраненного урожая, что определяется двумя факторами: (1) повышенной урожайностью современных сортов в условиях интенсивного возделывания; (2) высоким риском потерять урожай из-за массового размножения сосущих вредителей, которые заселяют теплицы повсеместно. Эти обстоятельства обуславливают одновременно и возможность, и насущную необходимость выделять на защиту растений в теплицах больше средств, чем в открытом грунте.

Анализ современной ситуации в защищенном грунте показывает, что энтомофаги могут быть одновременно высокоэффективны в подавлении вредителей, рентабельны в массовом разведении и технологичны во внесении. Однако, для того чтобы найти виды, отвечающие всем необходимым условиям, необходимо, чтобы объем первичного

скрининга охватывал тысячи видов, а не десятки, как это было в начале 20 века на заре развития биологического контроля (Павлюшин и др., 2001; Heimpel, Mills 2017).

Настоящий обзор посвящён анализу перспективных направлений скрининга энтомофагов, а также ключевых факторов, которые способствуют расширению ассортимента средств биологической защиты растений, включая хищных и паразитических членистоногих. Будут рассмотрены новые критерии отбора, которые определяются современным тепличным растениеводством (интерплантинг, светокультура, новые сорта и гибриды), а также новыми возможностями, которые открывают искусственный интеллект (большие данные, нейросети), оптические и спектрометрические средства раннего обнаружения вредителей.

## 1. Расширение ассортимента энтомофагов

### 1.1. Мировые тенденции и региональные особенности формирования ассортимента энтомофагов

Основная мировая тенденция в развитии биологического контроля вредителей – это расширение ассортимента энтомофагов. В начале 2000-х годов число видов хищных и паразитических членистоногих, которые были представлены на мировом рынке средств защиты растений, составляло 170 видов, к настоящему времени их количество удвоилось (Cock et al. 2010; van Lenteren et al. 2021). Однако одновременно с ростом числа видов энтомофагов наблюдается противоположенная тенденция: отказ от использования завозных видов тропического и субтропического происхождения. Повысились требования к видам-продуцентам, как следствие их отбор стал более строгим и многоплановым, увеличилось число критериев эффективности энтомофагов. Особое внимание уделяется оценке негативных последствий применения новых энтомофагов для местных видовых сообществ (Hajek et al., 2016; Abram, Moffat, 2018; Meurisse et al., 2022; Paula et al., 2021). Вследствие ужесточения требований к экологической безопасности энтомофагов в странах западной Европы существенно сократилась доля завозных видов (тропического и субтропического происхождения), которые используются в защите растений (van Lenteren et al., 2006; 2018).

На мировом рынке энтомофагов доминируют 3 европейские компании: Koppert (Нидерланды), Bioline AgroSciences (Великобритания-Франция) и Biobest (Бельгия), которые обеспечивают энтомофагами значительную часть сельхозпроизводителей из стран Европы и Северной Америки. Эти компании наладили крупномасштабное производство более 50 видов хищников и паразитоидов из 15 семейств и 7 отрядов. Расширение ассортимента в течение последних 20 лет происходит в основном за счет скрининга новых видов фитосейидных клещей. Предпочтение было отдано фитосейидам во многом из-за успешной апробации *A. swirskii* в борьбе с белокрылкой и другими сосущими вредителями (Calvo et al., 2015; Knapp et al., 2018). Предполагалось, что фитосейиды могут обеспечить контроль всех наиболее опасных вредителей защищенного грунта – паутинного клеща, трипсов и белокрылок. Насколько эти ожидания оправдались пока судить

сложно. Можно отметить, что в десятку наиболее широко используемых в европейских и североамериканских странах энтомофагов входит 4 вида фитосейид: *P. persimilis*, *A. swirskii*, *N. californicus* и *N. cucumeris* (Knapp et al. 2018).

Страны Северной Америки используют биотехнологические продукты крупных мультинациональных компаний (Koppert, Biobest и др.), а также закупают энтомофагов в местных биолaborаториях (инсектариях), которые весьма многочисленны особенно в США (Hunter, 1997; Warner, Getz, 2008). Локальное производство энтомофагов в основном сфокусировано на разведении видов североамериканской фауны: *Chrysopa rufilabris*, *Hippodamia convergens*, *Delphastus pusillus*, *Neoseiulus californicus*, *Orius insidiosus*, *Chrysoperla rufilabris* и др. (табл. 1).

В Китае ассортимент коммерчески доступных энтомофагов составляет 39 видов, которые используются преимущественно в теплицах. К основным производителям энтомофагов относятся 7 национальных биотехнологических компаний, в том числе Quentian™ Bio-Tech Co.(Beijing), NewLand™ BioControl Service Co. (Changchun, Jilin), TIANYI Biological Control, (Hengshui, Hebei Province). Среди фитосейидных клещей наиболее востребованы те же виды, что и в Европе – *P. persimilis* и *N. cucumeris* (Yang et al., 2014). Наряду с ними используются представители южно-азиатской фауны *Amblyseius pseudolongispinosus* и *Amblyseius nicholis* (Dong et al., 2011; Hu et al., 2007). Для контроля сосущих вредителей в теплицах в Китае широко и с успехом используются местные виды многоядных хищников (*Campylomma chinensis*, *Orius sauteri*, *Chrysoperla sinica*) и паразитоидов (*Aphidius gifuensis*, *Trichogramma chilonis*, *T. japonicum*) (Yang et al., 2014; Wang et al., 2019). Из 6 видов кокцинеллид, для которых в Китае разработаны технологии разведения на искусственных и полусинтетических питательных средах, широко используются *Harmonia axyridis* и *Leminia bipagiata*, которые распространены повсеместно, в том числе на территории Юго-Восточной Азии (Wang et al., 2007). Таким образом, китайская биотехнологическая индустрия по производству средств защиты растений ориентирована на преимущественное использование местных видов и популяций. Доля интродуцированных видов не превышает 10% от общего ассортимента энтомофагов.

**Таблица 1.** Ассортимент и масштабы локального производства энтомофагов для защищенного грунта в странах Северной Америки (модифицировано по Hunter, 1997, van Lenteren, 2003)  
**Table 1.** Range and scale of natural enemies production for greenhouses in North America (modified from Hunter, 1997, van Lenteren, 2003)

Семейство, отряд вид энтомофага	Целевой вредитель	Число биолaborаторий*		
		США	Канада	Мексика
<b>Chrysopidae (Neuroptera)</b>				
<i>Chrysopa carnea</i>	тли, алейродиды	42	8	15
<i>Chrysopa comanche</i>	тли, алейродиды	19	1	0
<i>Chrysopa rufilabris</i>	тли, алейродиды	47	6	1
<b>Coccinellidae (Coleoptera)</b>				
<i>Hippodamia convergens</i>	тли	46	10	0
<i>Harmonia axyridis</i>	тли	3	4	0
<i>Delphastus pusillus</i>	алеяродиды	26	8	0
<i>Stethorus punctillum</i>	паутинные клещи	0	2	0
<b>Anthocoridae (Hemiptera)</b>				
<i>Orius insidiosus</i>	трипсы, тли и др.	26	8	0
<i>Orius tristicolor</i>	трипсы, тли и др.	9	3	0
<b>Thripidae (Thysanoptera)</b>				
<i>Scolothrips sexmaculatus</i>	паутинные клещи, трипсы	11	0	0
<b>Phytoseidae (Parasitiphormes)</b>				
<i>Hypoaspis aculeifer</i>	трипсы	2	0	0
<i>Hypoaspis miles</i>	трипсы	20	9	0
<i>Amblyseius degenerans</i>	трипсы, паут. клещи	9	7	0
<i>Neoseiulus californicus</i>	паутинные клещи	33	7	0
<i>Neoseiulus cucumeris</i>	трипсы, паутинные клещи	32	11	0
<i>Neoseiulus fallacis</i>	паутинные клещи	15	5	0
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	паутинные клещи	44	10	0

Примечание: \* - указано число биолaborаторий (инсектариив), в которых проводят массовое разведение энтомофагов и коммерческую реализацию живых культур.

В России работы по освоению природных ресурсов энтомофагов были начаты в ВИЗР более 80 лет назад (Павлюшин и др., 2001). В настоящее время коллекция энтомофагов ВИЗР является крупнейшей в России и содержит более 40 лабораторных популяций насекомых и клещей из 11 семейств и 6 отрядов (табл. 2). Благодаря широкому скринингу видов из различных таксономических групп, отечественная коллекция отличается значительным разнообразием по жизненным формам и стратегиям отобранных видов.

Лабораторные популяции энтомофагов из коллекции ВИЗР используются для крупномасштабного производства и применения в тепличных хозяйствах на территории РФ. ВИЗР ведет совместную исследовательскую работу с крупнейшим отечественным производителем энтомофагов НТП ИНАППЕН (Санкт-Петербург). Проводится разработка новых технологий производства энтомофагов, в том числе, видов, новых для науки и для биологического контроля.

Следует подчеркнуть, что в современной экономической ситуации расширение отечественного производства энтомофагов особенно актуально. В настоящее время на территории РФ работают несколько компаний, осуществляющих поставку энтомофагов, в том числе ООО «БиоТехнология» (Белгород, 9 видов) и ООО «Биоконтроль» (Воронеж, 5 видов, только фитосейиды) (Каталог выставки «Защищенный грунт России...», 2022).

Несмотря на наличие отечественного производства, основными поставщиками энтомофагов в Россию выступают зарубежные компании (Koppert, Biobest, BioPlanet, BioBi, Syngenta), которые занимают до 70% российского рынка. За 2022 год стоимость ввезенных в Россию энтомофагов и насекомых-опылителей составила более 9 млн. долларов (по данным Федеральной таможенной службы). В настоящее время зарубежные производители ищут новые пути доставки, испытывают сложности с логистикой быстро портящейся биотехнологической продукции. Попытки тепличных комбинатов наладить собственное производство энтомофагов требуют времени, кадров и инвестиций. Поэтому сейчас особенно актуально поддерживать отечественные биофабрики и биолaborатории по массовому разведению энтомофагов, а также малотоннажные региональные производства микробиопрепаратов.

## 1.2. Причины расширения ассортимента энтомофагов

Поиском новых видов-продуцентов активно занимаются научно-исследовательские организации из различных стран, а также ведущие мировые производители средств защиты растений. Благодаря их совместным усилиям в течение последних 20 лет в 2 раза увеличилось число энтомофагов для применения в защищенном грунте. Расширение ассортимента обусловлено следующими причинами:

1. Интенсификация тепличного растениеводства путем внедрения новых технологий (интерплантинг, светокультура), которые дестабилизируют фитосанитарную обстановку в теплицах (Белякова, Поликарпова, 2014; Король,

**Таблица 2.** Лабораторные популяции членистоногих-энтомофагов коллекции ВИЗР  
**Table 2.** The laboratory populations of entomophagous arthropods in the VIZR collection

Семейство, отряд вид энтомофага	Географическое происхождение популяции (место, год)	Основной объект контроля	Периодичность воз- обновления, поколе- ний в год
<b>Coccinellidae, Coleoptera</b>			
<i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	Египет, 1949	червецы	12
<i>Cycloneda limbifer</i>	Куба, 1972	тли	10
<i>Propylea japonica</i>	Сев.-Вост. Китай, 2018	тли	15
<i>Propylea 14-punctata</i>	Ленингр. обл., 2018	тли	15
<i>Propylea dissecta</i>	Непал, 2013	тли	15
<i>Cheilomenes sexmaculatus</i>	Непал, 2013	тли	12
<i>Cheilomenes propinqua</i>	Египет, 2016	тли	14
<i>Harmonia dimidiata</i>	Ю-Вост. Китай, 1990	тли	
<i>Harmonia axyridis</i>	Сев.-Вост. Китай, 2018 Краснод. край, 2020 и др.	тли	10
<b>Hemeroptera, Neuroptera</b>			
<i>Micromus angulatus</i>	Прим. край, 2005	тли	10
<b>Chrysopidae, Neuroptera</b>			
<i>Chrysopa pallens</i>	Корейский п-в, 2007	тли	12
<b>Anthoridae, Hemiptera</b>			
<i>Orius strigicollis</i>	Корейский п-ов, 2004	трипсы	15
<i>Orius laevigatus</i>	Ставроп. край, 2020	трипсы	15
<b>Miridae, Hemiptera</b>			
<i>Macrolophus pygmaeus</i>	Белоруссия, 1990	белокрылки	2
<i>Dicyphus errans</i>	Краснод. край, 2015	белокрылки	
<i>Nesidiocoris tenuis</i>	Корея, 2003	белокрылки	11
<b>Pentatomidae, Hemiptera</b>			
<i>Podisus maculiventris</i>	Сев. Америка, 1974	чешуекрылые	12
<i>Perillus bioculatus</i> F.	Краснод. край, 2012	-«-	2
<b>Cecidomyiidae, Diptera</b>			
<i>Aphidoletes aphidimyza</i>	Ленингр. обл., 1995	тли	2
<b>Aphidiidae, Hymenoptera</b>			
<i>Aphidius colemani</i>	Сев. Кавказ, 1992, 2002	тли	15
<i>Aphidius matricariae</i>	Сев. Кавказ, 2002		
<i>Aphidius gifuensis</i>	Сев.-Вост. Китай, 2018	тли	12
<i>Lysiphlebus testaceipes</i>	Мексика, 1987–1989	тли	15
<b>Aphelenidae, Hymenoptera</b>			
<i>Encarsia formosa</i>	Ю. Америка, 1965	белокрылка	14
<b>Trichogrammatidae, Hymenoptera</b>			
<i>Trichogramma evanescens</i>	Воронежская обл., 1980	чешуекр.	2
<b>Phytoseiidae, Parasitiformes</b>			
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Чили, 1972; Египет, 2016	паут. клещ	20–25
<i>Amblyseius californicus</i>	Египет, 2016	паут. клещ	> 30
<i>Neoseiulus agrestis</i>	Алтайский край, 2021	трипсы	>50
<i>Neoseiulus montdorensis</i>	неизвестно	трипсы	>50
<i>Amblyseius cucumeris</i>	неизвестно	трипсы	>50
<i>Amblyseius barkeri</i>	неизвестно	трипсы	>50

2020); обилие искусственных материалов, включая заменители почво-грунта, что может затруднять размножение энтомофагов, которые в природной среде окукливаются в почве.

2. Инвазии опасных вредителей, частота которых постоянно растет.

3. Расширение практики превентивной защиты растений, для которой необходимы виды устойчивые к пищевому стрессу, способные выживать в теплицах, питаясь

суррогатными кормами в отсутствие вредителя (Pijnakker et al., 2020).

4. Переход от эпизодического локального внесения энтомофагов в очаги вредителей к регулярным «ковровым» выпускам по всей защищаемой площади, что требует автоматизации внесения хищников и паразитоидов (Ort et al., 2005; Lanzoni et al., 2017; Brenard et al., 2018, 2019); следовательно, они должны быть исходно устойчивыми к механическим повреждениям (имаго жесткокрылых,

например) или отселектированы соответствующим образом для минимизации потерь при автоматизированном внесении.

5. Необходимость адаптации к новым сортам и гибридам (селекция энтомофагов на способность размножаться на новых сортах) (Козлова, Моор, 2012).

6. Создание систем защиты растений с применением новых пестицидов селективного действия и полифункциональных микробиопрепаратов. Популяции энтомофагов, отселектированные на резистентность к пестицидам, востребованы в тепличном растениеводстве из-за повсеместного технологического перехода от последовательного к

совместному применению химических и биологических средств защиты растений (Dader et al., 2020).

7. Интеграция микробиологической защиты растений и биологического контроля вредителей, в том числе отбор энтомофагов, способных переносить споры и мицелий штаммов-продуцентов энтомопатогенных грибов.

Все перечисленные выше особенности современных технологий тепличного растениеводства приводят к усложнению критериев отбора энтомофагов, повышаются требования к их адапционным способностям, возможностям высоко рентабельного масштабируемого производства, длительного хранения и авиа-транспортировки на дальние расстояния.

## 2. Концепция защиты растений и экологические основы скрининга

Основные направления скрининга энтомофагов в современном тепличном растениеводстве определяются концепцией биологической защиты растений (Павлюшин, 1998; Павлюшин, Белякова, 2013; Павлюшин и др., 2022), в соответствии с которой, для эффективного контроля вредителей и фитопатогенов в защищенном грунте необходимо выполнение следующих условий:

1. Регистрация уровня биоценотической регуляции в тепличном агробиоценозе. Фитосанитарный мониторинг, включающий оценку состояния популяций не только вредителей, но и энтомофагов.

2. Формирование паразитоценоза – видового комплекса энтомофагов, энтомопатогенов и микробов-антагонистов, обитающих в тепличном агроценозе.

3. Совпадение оптимумов температуры и влажности для защищаемых растений, энтомофагов и штаммов-продуцентов.

4. Достижения гарантированного защитного эффекта за счет одновременного действия комплекса биологических средств на популяции вредителей и болезней и перевода

быстро размножающихся видов фитофагов в состояние депрессированного размножения при питании на устойчивых сортах или под воздействием микробиопрепаратов.

5. Технологическая совместимость энтомофагов, микробиопрепаратов, малотоксичных химических пестицидов и других элементов технологий тепличного растениеводства.

Первичная задача скрининга найти надежные и поддающиеся количественной оценке характеристики для выявления видов, популяций и отдельных особей (генотипов), которые станут продуцентами массовых культур энтомофагов, соответствующих базовым положениям концепции биологической защиты растений. Рациональное освоение биоресурсов энтомофагов, с нашей точки зрения, должно базироваться на комплексной оценке их биологического разнообразия на 4 уровнях – видовом, популяционном, генетическом (разнообразии генов и аллелей – исходный материал для селекции) и экосистемном (видовые сообщества, коадаптивные комплексы, симбиотические ассоциации) (табл. 3).

**Таблица 3.** Методологическая основа скрининга энтомофагов для биологического контроля  
**Table 3.** Methodological foundation of entomophagous screening for biological control purposes

Уровень оценки энтомофага	Методология	Предмет оценки	Основные задачи скрининга
I. Индивидуальный и посемейный анализ	Аутэкологический подход. Факториальная экология.	Реакция особей и их потомства на абиотические факторы и разные виды жертв (заменители прир. корма). Толерантность к лимитирующим факторам среды (температура, влажность, фотопериод, недостаток корма)	<b>Оценка основной жизненной стратегии вида.</b> Выявление генетической гетерогенности по показателям, определяющим репродукцию, стресс-устойчивость, тест на возможность селективного улучшения
II. Популяционный уровень	Дэмэкологический подход. Популяционная экология.	Локальные популяции энтомофага оценивают по репродуктивному потенциалу, интенсивности внутривидовой конкуренции и межвидовым взаимоотношениям в системе триотрофа	<b>Оценка совокупности жизненных стратегий вида</b>
III. Экосистемный уровень	Системная экология	Видовые сообщества и среда обитания (биотоп), как элемент агроценоза. Биотоп и населяющие его организмы рассматривают как функциональное единство	Выявление условий, необходимых для достижения биоценотического равновесия в агроценозе. Создание систем биологической защиты растений

### 2.1. Видовой и популяционный уровень скрининга

На видовом и популяционном уровне основу скрининга составляет оценка жизненной стратегии вида. Наиболее известной и широко используемой является система жизненных стратегий Грайма (конкуренты, стресс-толеранты и рудералы, или экспреленты), разработанная для растений и позже успешно тестированная на млекопитающих и растительноядных насекомых (Grime, Pierce, 2012). Жизненная стратегия вида отражает его устойчивость к пищевому стрессу и конкурентному вытеснению, а также способность оперативно реализовать репродуктивный потенциал при наличии свободного от конкурентов пищевого ресурса.

На рисунке 1 представлены основные варианты фитосанитарной ситуации (нет вредителя, локальные очаги, вспышка размножения) и соответствующие им способы применения энтомофагов (инокуляция и наводняющие выпуски). До появления вредителя варианты выпуска энтомофагов зависят от его пищевой специализации: виды с узкой пищевой специализацией невозможно поддерживать в агроценозе без вредителя, следовательно, их выпускают регулярно без расчета на размножение. Если вносят полифага, то его можно подкармливать суррогатными кормами. Кратности выпусков в этом случае ниже, чем для видов-специалистов. Кроме того, возможно накопление полифагов на заменителях корма.



**Рисунок 1.** Способы применения энтомофагов в современных теплицах

**Figure 1.** Methods of natural enemy application in modern greenhouses

При наличии локальных очагов вредителя выпуск проводят путем внесения низких норм, исходя из того, что энтомофаг начнет размножаться в очагах. Но если плотность очагов высока, то проводят наводняющие выпуски, как и во время вспышки вредителя (Eilenberg et al., 2001). Интересно, что при максимально различных ситуациях – отсутствие вредителя и его вспышка – используется одинаковый способ применения энтомофагов с узкой пищевой специализацией – кратный выпуск без расчета на размножение. Однако причины отсутствия размножения различны. В чистой теплице нет жертвы (хозяина), а найти безопасный для растений вид-заменитель для моноили олигофага весьма сложно (Messelink et al., 2014). При вспышке вредителя на размножение энтомофага просто нет времени. Защитный эффект нужен здесь и сейчас.

Каждый вариант фитосанитарной ситуации и способ внесения энтомофагов дает преимущества видам с определенными жизненными стратегиями. Для профилактических выпусков в отсутствие вредителя базовой стратегией должна быть устойчивость к пищевому стрессу в сочетании со способностью быстро реализовать репродуктивный потенциал при появлении жертвы (или хозяина). При наличии очагов на первый план выходит способность к эффективному стабильному размножению в очагах при невысокой численности вредителя. Большое значение получает забота о потомстве, материнские инвестиции. При вспышке вредителя размножения энтомофагов не предполагается, нормы рассчитаны на биоцидный эффект от выпущенных особей. Основное качество – прожорливость и устойчивость к конкурентному вытеснению другими хищниками, в том числе в форме внутрigrуппового хищничества. Единственная стратегия, которая в любой ситуации дает виду адаптивное преимущество – это способность к быстрой репродукции при внезапно возникшем пищевом ресурсе, свободном от конкуренции. Иными словами, стратегия рудерала-опортуниста делает энтомофага эффективным агентом биоконтроля. При профилактике это дает возможность уничтожить первичные очаги вредителя. При наличии вредителя размножение энтомофага обеспечивает стабильный защитный эффект в течение длительного времени, т.к. только при размножении происходит взаимодействие двух популяций вредителя и энтомофага, то есть биоценотическая регуляция.

Следует отметить, что на популяционном уровне уникальным ресурсом для скрининга служат акклиматизировавшиеся популяции энтомофагов, которые были интродуцированы на территорию нашей страны 40–50 лет назад. Примером тому служат клоп-щитник *Perillus bioculatus* F., коровки *Serangium parcesetosum* Sicard. и *Cryptolaemus montrouzieri* Muls., акклиматизировавшиеся в Краснодарском крае (Белякова, Поликарпова, 2012; Орлова-Беньковская, 2017; Исмаилов и др., 2019).

### 2.2. Системный уровень скрининга

Новые виды энтомофагов должны в конечном итоге стать частью видового сообщества насекомых, клещей, нематод и микроорганизмов, которыми искусственно населяют агроценоз для достижения гарантированного защитного эффекта. Все агенты биоконтроля в агроценозе рассматриваются как функциональное единство – паразитоценоз (в расширенном понимании этого термина, поскольку комплекс полезных видов включает не только паразитических, но и свободноживущих консументов второго порядка, таких как хищные членистоногие, нематоды, сапрофитные формы энтомопатогенов).

Исходную структуру паразитоценоза (видовой состав и соотношение численностей разных видов) во многом определяет человек, выбирая виды и нормы внесения. Исходя из экосистемного (биоценотического) подхода, задача скрининга видов должна состоять в том, чтобы этот искусственный конгломерат в течение культуроборота работал как стабильное видоое сообщество. Однако возникает два вопроса: 1) насколько эта задача достижима; 2) насколько это необходимо для достижения конечной цели – сохранения урожая.



По количеству видов паразитоценозов в теплицах неполный. Однако имитировать в теплицах видовое богатство агроландшафтов невозможно и нерационально. Следует отметить, что большое количество видов энтомофагов не всегда гарантирует сдерживание вредителя ниже порога вредоносности. Например, на первых этапах инвазии колорадского жука сообщество местных энтомофагов, несмотря на их видовое разнообразие и стабильность, долгое время не справлялось с инвайдером (Гусев, 1990).

Существует много примеров того, как в полевых агроценозах рост видового разнообразия энтомофагов не влиял на их суммарную эффективность в подавлении вредителя или вызывал ее снижение (в 30% проанализированных случаев) (Letourneau et al. 2009). Это свидетельствует о невозможности оценивать стабильность сообществ на основе только таксономического разнообразия.

Тепличные агроценозы отличаются крайней нестабильностью, но не из-за недостатка видов, а в силу своей островной природы. Каждый технологический цикл они формируются «с нуля», нет севооборота, нет зимующего запаса вредных и полезных видов в силу изоляции от окружающего агроландшафта. Комплекс доминирующих

фитофагов представлен видами с взрывным характером численности. Не столь важно их количество (видовое разнообразие). Ключевую роль играет сходство их жизненных стратегий, т.е. отсутствие адаптивного разнообразия.

В теплицах нестабильностью отличается не только система «растение-фитофаг», но межвидовые взаимодействия внутри комплекса энтомофагов. Причина этого заключается, как и в случае с фитофагами, в низком уровне адаптивного разнообразия. Среди агентов биоконтроля преобладают рудералы с высоким репродуктивным потенциалом, что необходимо для их массового размножения и дает адаптивные преимущества при любой фитосанитарной ситуации (см. раздел 2.1). Еще одним фактором потенциальной нестабильности тепличного паразитоценоза служит происхождение видов, входящих в паразитоценоз. Большинство из них в природной среде не обитают совместно, следовательно, не коадаптированы друг к другу.

Изменение в структуре паразитоценоза определяют межвидовые взаимодействия и индивидуальные особенности видов (табл. 4). Всегда работают оба механизма, но их роль может существенно различаться в зависимости от видового состава и фитосанитарной ситуации.

**Таблица 4.** Механизмы, определяющие изменения в структуре паразитоценоза  
**Table 4.** Mechanisms that determine changes in the structure of parasitocenosis

Механизмы	Дестабилизирующие	Стабилизирующие
Межвидовые взаимодействия	Внутригрупповое хищничество, конкуренция за места для репродукции	Мутуализм, комменсализм
Видовые особенности, которые проявляются независимо от присутствия других видов	Полифагия, высокий репродуктивный потенциал и расселительные способности	Узкая пищевая специализация (способствует разделению ниш), защищенность от хищников, стрессоустойчивость, в том числе к дефициту пищевых ресурсов и заражению паразитами

В тепличных паразитоценозах, как правило, преобладают дестабилизирующие механизмы (табл. 4). Это – широкое использование быстроразмножающихся полифагов (Messelink et al., 2008 Pilkington et al., 2010). Высокие нормы внесения обостряют конкуренцию, в том числе в форме внутригруппового хищничества (Rosenheim et al., 1995). Стабилизирующие межвидовые взаимодействия в паразитоценозе проявляются слабо и поэтому гораздо хуже изучены. Нам неизвестны примеры мутуализма между энтомофагами в агроценозах; не ясно будет ли это усиливать защитный эффект.

На системном уровне скрининга при моделировании межвидовых взаимодействий первостепенной задачей выступает оценка негативных последствий совместного применения агентов биоконтроля из разных классов, типов или царств (насекомые, клещи, нематоды, грибы, бактерии). В частности, отсутствие побочного негативного действия токсинов микроорганизмов на новые виды энтомофагов относится к необходимым условиям для их включения в системы защиты растений. Изучение конкурентных взаимодействий между энтомофагами тоже входит в обязательную программу скрининга (van Lenteren et al. 2018). Исключить негативное побочное влияние агентов биоконтроля друг на друга необходимо.

В идеальном случае энтомофаги, энтомопатогены и микробы-антагонисты должны давать синергетический

защитный эффект. Поэтому предпринимаются попытки разработать новые пути их совместного использования для повышения суммарной эффективности. Например, энтомофагов тестируют в качестве переносчиков вирусов, микроспоридий, энтомопатогенных грибов и микробов-антагонистов (Kevan et al., 2020). Развитию этого направления в защите растений способствовал успех в использовании насекомых-опылителей для внесения микробиологических препаратов (Mommaerts, Smagghe, 2011).

К настоящему времени экспериментально доказана возможность переноса энтомофагами энтомопатогенных грибов. Использовали, в основном, хищников (кокцинеллид, златоглазок, клопов-сleпняков, антокорид, щитников), на покровы которых наносили споры *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium longisporum*, *L. muscarium*, *Paecilomyces fumosoroseus* (Down et al., 2004; Alma et al., 2007; Down et al., 2009; Zhu, Kim, 2012). Отношения между насекомыми и энтомопатогенными грибами в этом случае можно определить как комменсализм. Насекомые переносят споры в очаги вредителей, где у энтомопатогенных микроорганизмов выше шансы найти хозяина. Польза от таких отношений есть только для гриба-комменсала. Работая переносчиками, насекомые не получают какого-либо адаптивного преимущества. Они не имеют каких-либо спецприспособлений для переноса спор. Следовательно, их эффективность как переносчиков определяется: 1) особенностями



Существенной особенностью сезонной колонизации выступает стабильно низкий уровень численности вредителя. Теоретически энтомофаг не должен уничтожать вредителя, но подавлять рост его популяции. Равновесная плотность вредителя в системе «энтомофаг-вредитель» находится существенно ниже экономического порога вредоносности (ЭПВ), что делает сезонную колонизацию оптимальным способом применения энтомофагов (рис. 2а). Нормы внесения рассчитывают, в основном, из плотности вредителя, формируя оптимальные соотношения «хищник-жертва» (Бондаренко, 1986; Messelink et al., 2014; Bout et al., 2022).

Проблема состоит в том, что на практике описанную выше, высоко благополучную фитосанитарную ситуацию воспроизвести крайне сложно. Основные причины этого:

1) запаздывание с выпуском энтомофагов из-за низкой разрешающей способности мониторинга в агроценозах, в результате чего выпуск проводят на фоне вспышки массового размножения, когда численность вредителя уже пересекла ЭПВ (рис. 2 б);

2) не все энтомофаги способны к стабильному гарантированному размножению в агроценозах, особенно в современных промышленных теплицах, которые насыщены искусственными материалами, лишены почвы и пр.;

3) сложности со своевременной поставкой крупных промышленных партий энтомофагов.

Если сезонная колонизация оказалась неэффективной, биологический контроль естественным образом переходит в следующую фазу – массовые (наводняющие) выпуски, которые, по сути, представляют собой следствие неудачной сезонной колонизации. Крайне редко в производственных условиях сельхозпроизводители изначально настроены на массовые выпуски, прежде всего из-за их высокой себестоимости. При массовых выпусках сдерживание вредителя проводят непосредственно выпущенные особи энтомофагов, а не их потомки, как в случае с сезонной колонизацией (van Lenteren, 2000; Eilenberg, 2006). Для размножения энтомофагов уже нет времени, т.к. ЭПВ перейден, спасать урожай надо в краткие сроки (рис. 2 б).

Принципиальное отличие массовых выпусков от сезонной колонизации заключается в отсутствии саморегуляции в системе «энтомофаг-вредитель», когда рост плотности вредителя приводит к увеличению популяции хищника, и наоборот. Без этого баланса между популяциями фитосанитарная ситуация не может быть стабильной. Вскоре после первого массового выпуска необходимо проводить второй и так далее до конца оборота. Продолжительность защитного эффекта определяется сроком жизни выпущенных особей, что при самом оптимистичном сценарии не превышает 1–2 недель в отличие от сезонной колонизации, которая длится месяцами (рис. 2 а, б).

Если при сезонной колонизации плотность энтомофагов в агроценозе близка к естественному уровню, то при массовых выпусках этот показатель выходит далеко за пределы диапазона плотностей, свойственных природным сообществам. Низкие соотношения хищник-жертва на фоне высокой плотности взаимодействующих популяций создают условия для усиления внутривидовой конкуренции в форме каннибализма, а также межвидовой конкуренции в форме внутригруппового хищничества (Schausberger, 2003; Mills, 2006; Schmidt et al., 2014). Чем

выше плотность популяций, тем чаще хищники поедают друг друга. Усиление конкуренции между хищниками при высоких плотностях нередко приводит к снижению их эффективности в подавлении вредителей (Finke, Denno, 2006; Messelink et al., 2013; Mishra et al., 2014; Kumar, Mishra, 2014). Например, было отмечено снижение плотности клопа *Orius tristicolor* вследствие хищничества личинок златоглазки *Chrysoperla sp.*, что привело в свою очередь к росту плотности паутиного клеща (Rosenheim, 2005). Завышенные нормы внесения хищных видов приводят к снижению плотности паразитоидов, которые служат наиболее вероятными жертвами внутригруппового хищничества, так как не могут оказать сопротивления (Snyder, Ives, 2001; Erbilgin et al., 2004).

Искусственное повышение плотности энтомофагов при наводняющих выпусках может привести к развитию инфекционных патологий у энтомофагов, особенно, если они восприимчивы к применяемым энтомопатогенным препаратам (Павлюшин, Красавина, 1986, 1987; Donka et al., 2008). В связи с этим профилактическая обработка защитными микробиопрепаратами должна предшествовать выпуску энтомофагов.

Как уже отмечалось выше, к одной из слабых сторон сезонной колонизации относится неспособность систем мониторинга распознавать и локализовать первичные очаги вредителя на первых стадиях заселения агроценозов. В результате этого сельхозпроизводитель запаздывает с выпуском энтомофагов, что приводит к неконтролируемому накоплению вредителя. В этой ситуации проводят массовые выпуски, как быстродействующее средство, чтобы предотвратить или, по крайней мере, ослабить вспышку массового размножения вредителя. Энтомофагов в этой ситуации используют как биоцидный элемент подобно действующему веществу в пестицидах, тем самым лишая биологический метод защиты основного своего преимущества – саморегуляции и самодостаточности (Hajek, Eilenberg, 2018).

Если на овощных культурах наводняющие выпуски – это крайнее средство в экстремальной фитосанитарной ситуации, то на посадках цветочно-декоративных культур этот способ применения энтомофагов используют в ежедневной практике. Целесообразность наводняющих выпусков в агроценозах цветочно-декоративных культур обусловлена следующими причинами: 1) низкий порог вредоносности фитофагов – недопустимы повреждения листьев и цветков, потеря декоративности происходит при очень низкой плотности вредителя; 2) жесткие требования к отсутствию насекомых и клещей на готовой продукции, особенно при экспорте; при этом срезанные цветы или горшочные растения очистить перед реализацией гораздо сложнее, чем плодоовощную продукцию; 3) огромное разнообразие видов и сортов цветочно-декоративных культур, выращивают, как правило совместно, что чрезвычайно усложняет фитосанитарную обстановку в теплицах из-за разного уровня устойчивости защищаемых растений; 4) стоимость цветочной продукции достаточно высока, чтобы покрыть расходы на внесение высоких норм энтомофагов (van Lenteren, 2007).

По причисленным причинам долгое время биологический контроль не применяли для защиты цветочно-декоративных культур, предпочитая пестициды, использование

которых в агроценозах данного типа не ограничено, так как продукция не идет в пищу и поэтому уровень допустимых остаточных количеств существенно выше, чем на овощных. Со временем из-за резистентности биологический контроль вредителей на цветах стал насущной необходимостью. Применяли энтомофагов методом наводнения отчасти по указанным выше причинам, отчасти потому что сезонная колонизация постоянно прерывалась периодическими химическими обработками против вторичных вредителей (Gullino, Wardlow, 1999; Enkegaard, Brødsgaard, 2006).

Из плюсов массовых выпусков следует упомянуть следующее: гарантированный защитный эффект в короткие сроки, отсутствие резистентности вредителей к «живому пестициду» и их экологическую безопасность для урожая и персонала. Но биоценотическая регуляция существенно ослабевает, а именно она делает биоконтроль принципиально другим по сравнению с остальными методами защиты растений.

### 3.2. Превентивная колонизация

Превентивная, или профилактическая колонизация – это выпуск энтомофага до появления вредителя (рис. 2 в). Решение о начале защитных мероприятий принимается исходя из сроков посадки (посева), а нормы внесения энтомофагов зависят от вида и стадии развития защищаемых растений (Бондаренко, 1986; Bout et al., 2022).

Ключевой причиной перехода выпуска энтомофагов в очаги к превентивной колонизации служит уже упомянутая выше низкая разрешающая способность мониторинга. Считается, что тщательный мониторинг снижает затраты на энтомофагов и другие средства защиты. Это справедливо, но необходимо понимать, что возможности современного мониторинга в принципе ограничены. Это обусловлено прежде всего значительной биомассой защищаемых растений, которые на овощных культурах при плотности 2–3 стебля/м<sup>2</sup> достигают высоты 3–3.5 м, при этом их необходимо ежедневно обследовать в поисках первичных очагов вредителей. В случае с зелеными и горшечными культурами площадь стеллажных гидропонных установок столь велика (200–300 м<sup>2</sup>), что растения в центральной их части совершенно недоступны для обследования (если только с дронов). Имеющиеся на сей день инструменты мониторинга (клеевые ловушки, визуальные обследования) не дают гарантий, а иногда даже шансов, выявить первые очаги вредителей. Поэтому для гарантированной защиты необходимо начинать выпуск энтомофагов непосредственно после посадки растений. Это увеличит расходы на защиту, но поможет ограничить по численности и/или отложить во времени вспышку массового размножения, что в свою очередь избавит от необходимости проводить массовые выпуски, а позволит плавно перейти от превентивной колонизации к сезонной, когда вредитель появится.

Превентивная колонизация представляет собой обязательный элемент защиты растений в современных промышленных теплицах, которым свойственна высокая урожайность. Чем выше урожайность, тем больше потенциальные потери от вредителей. Порог ЭПВ снижается, так как цена ошибки возрастает. Высокая стоимость урожая делает превентивную колонизацию все более и более

рентабельной, особенно на цветочно-декоративных культурах. Например, на гербере против западного цветочного трипса разработана стратегия подавления вредителя за счет массовых выпусков *Orius majusculus*, которые проводят превентивно. Хищника вносят в количествах, значительно превышающих профилактические нормы. Обычно цель превентивной колонизации заключается в создании в будущем (при появлении вредителя) баланса между популяциями хищника и жертвы. Но в описанном выше случае единственной целью выпусков выступает удержание плотности вредителя ниже порога вредоносности (Brødsgaard, 1995). Энтомофага применяют как химический препарат в расчете на прямой биоцидный эффект от выпущенных особей, не рассчитывая на их размножение.

#### 3.2.1. Предварительный выпуск энтомофагов (predator-in-first)

Чаще всего превентивную колонизацию проводят, выпуская энтомофагов в начале культуроборота. Для поддержания выпущенных особей на растения вносят заменители природных кормов (яйца чешуекрылых, цисты веслоногих раков, пыльцу, пищевые среды с использованием продуктов пчеловодства). Энтомофаг, как правило, не может размножаться на этих суррогатных кормах, но продолжительность его жизни растет (Ramakers, 1990; Messelink et al., 2008; Wade et al., 2008; Kumar et al., 2015; Pijnakker et al., 2020).

#### 3.2.2. Предварительный выпуск вредителей (pest-in-first)

Разновидность превентивной колонизации – технология выпуска вредителя вначале, а затем – энтомофага. Данный прием впервые был предложен для контроля паутинного клеща в защищенном грунте. Вредителя вносили в чистую теплицу, а после его адаптации и начала размножения добавляли хищника – фитосейулюса (Havelka, Kindlmann, 1984). Идея в основе описанного выше метода была весьма перспективной: создать саморегулируемую систему «энтомофаг-вредитель» по аналогии с сезонной колонизацией. Но практика показала, что риск, связанный с использованием вредителей с взрывным характером численности, перекрывает потенциальные преимущества данного подхода. Принудительное заражение растений таким опасным вредителем как паутинный клещ, приводило к негативным последствиям. Во-первых, защитный эффект фитосейулюса не всегда гарантирован из-за его высокой чувствительности к низкой влажности. Кроме того, очистить теплицу от паутинного клеща в период между культуроборотами невозможно даже применяя весь арсенал дезинфекторов.

Стратегия pest-in-first была с успехом использована в борьбе с оранжерейной белокрылкой на овощных культурах, однако была отвергнута сельхозпроизводителями из-за риска вспышки вредителя (Lambert et al., 2005). Поэтому от практики pest-in-first отказались из-за неоправданного риска при внесении вредителей в агроценоз.

#### 3.2.3. Растения-накопители (banker plants), живая жертва

Подход pest-in-first получил развитие в другом варианте превентивной колонизации, в котором вредители были заменены на фитофагов, безопасных для защищаемых растений (Huang et al., 2011; Pijnakker et al., 2020).

Подбор фитофагов, которые могут заменить целевую жертву (вредителя) возможен в основном для афидофагов. На зерновых культурах были найдены тли, безопасные для культур защищенного грунта (овощные, цветочные, ягодные). Злаковую или чермухово-злаковую тлей и наездников-афидиид вносят в агроценоз на растениях пшеницы или ячменя, которые выступают в качестве места сезонной колонизации паразитоидов до появления целевых вредителей (персиковой, бахчевой и др. тлей) (Payton, Rebeck, 2018).

Данный вариант превентивной колонизации идеален, так как обеспечивает долгосрочный защитный эффект в отсутствие вредителей. Его высокая стабильность базируется на механизме саморегуляции популяций энтомофага и его лабораторной (заместительной) жертвы, также как это происходит при сезонной колонизации (Yano et al., 2018). Основным недостаток – чрезвычайно сложно найти технологичную в разведении и безопасную для растений лабораторную жертву, пригодную для поддержания популяции энтомофага в агроценозе на растениях-накопителях.

### 3.3. Классический биоконтроль

Классическим называют тип биоконтроля, который предполагает интродукцию экзотических видов энтомофагов для подавления инвазионных вредителей. В настоящее время скрининг новых видов для интродукции приостановлен. С 2010 г. все международные программы классического биоконтроля закрыты, завоз экзотических видов энтомофагов исключен из практики защиты растений из-за потенциальной опасности для биоразнообразия местных видовых сообществ. Продолжается только мониторинг за уже акклиматизировавшимися популяциями энтомофагов, которые были интродуцированы в течение XX века (Cock et al., 2016). В будущем мы не исключаем, что точка зрения защитников окружающей среды изменится, в том числе по вопросу сохранения биоразнообразия, которое по своей природе постоянно флуктуирует. Невозможно сохранить неизменным то, что подвержено влиянию десятков неконтролируемых и непредсказуемых факторов (изменения климата, глобализация экономики и социальной жизни). Сейчас, когда интенсивность инвазий фитофагов-вредителей растет по экспоненте, с нашей точки зрения, нецелесообразно отказываться от интродукции энтомофагов, как одного из эффективных способов борьбы с инвазионными вредителями, учитывая, что биологический контроль не вызывает резистентности и безопасен для человека, теплокровных животных и насекомых-опылителей.

В качестве примера использования приемов классического биоконтроля в современном тепличном растениеводстве можно привести борьбу с томатной минирующей молью *Tuta absoluta*, инвазия которой началась в начале 2000-х годов на территории Европы, в том числе на юге России. Для борьбы с этими вредителями в Краснодарском крае был проведен поиск местных энтомофагов. Отобраны 124 вида паразитических перепончатокрылых надсемейств Bethyloidea, Ichneumonoidea и Chalcidoidea, которые паразитируют на *T. absoluta* (Костюков и др., 2015). Но использование выявленных местных видов энтомофагов было невозможно из-за отсутствия технологий их массового разведения, которые для паразитоидов

весьма трудоемки и требуют значительного времени для подбора оптимального хозяина и адаптации природных популяций энтомофагов к техноценозу. Однако в борьбе с карантинным вредителем время лимитировано, т.к. инвайдер разрушает сложившиеся системы биологической защиты в теплицах. Поэтому оперативным решением в защите растений от *T. absoluta* стали не местные паразитоиды, а завозные виды многоядных хищных клопов – *Podisus maculiventris* и *Nesidicoris tenuis* (Ghoneim, 2014).

Подизус был интродуцирован из Северной Америки для борьбы с белой американской бабочкой в европейских странах и с колорадским жуком в России (Ижевский, 1990; Гусев, 1991). Известно, что клопы рода *Podisus* питаются гусеницами *T. absoluta*, несмотря на их скрытный образ жизни (Torres et al., 2002; Ghoneim, 2014). Этот факт послужил основанием рекомендовать *P. maculiventris* как энтомофага против *T. absoluta* (Попов, Белякова, 2022).

В теплицах подизус применяется на овощных и декоративных культурах против гусениц совок (капустной, огородной, совки-гаммы и др. местных видов), что представляется ярким примером неоклассического биоконтроля (De Clercq et al., 1998; De Clercq, 2000; Ижевский, Ахатов, 2004). Энтомофаг-интродуцент, будучи не эффективным против своего целевого вредителя-инвайдера (колорадского жука), успешно используется против местных вредителей (Eilenberg et al., 2001). Возможность использовать популяции интродуцированных энтомофагов как источник для скрининга новых видов теплиц – это еще один аргумент в защиту интродукции энтомофагов, как одного из перспективных направлений биоконтроля.

### 3.4. Сравнительный анализ разных типов биоконтроля и требования к энтомофагам

Сопоставляя особенности разных типов биоконтроля, можно выделить следующие основные качества, которыми должен обладать эффективный энтомофаг. Для сезонной колонизации нужны виды, способные размножаться как в условиях биотехнологических производств, так и в агроценозах. При этом в техноценозе массовая культура (популяция) проходит сотни, иногда тысячи поколений, а в агроценозе колонизация ограничена одним культуроборотом. Для овощных культур этот срок не превышает 6 месяцев, что максимально составляет 20–30 поколений для видов с наиболее короткими сроками развития. На цветочных культурах продолжительность сезонной колонизации энтомофага несколько больше. Например, на розах сроки могут достигать нескольких лет, пока посадки не будут заменены молодыми растениями (табл. 5).

При массовых выпусках размножение энтомофагов происходит исключительно в техноценозе; при превентивной колонизации – тоже, за редким исключением (вариант с растениями-накопителями).

Таким образом, основная дилемма скрининга энтомофагов заключается в следующем: вид должен сохранить исходные качества эффективного охотника, размножаясь годами в искусственных условиях биотехнологических производств. Примечательно, что это требование к энтомофагу одинаково справедливо как для массовых выпусков, так и для колонизации (превентивной или сезонной).

**Таблица 5.** Особенности разных типов биоконтроля в тепличных агроценозах  
**Table 5.** Features of main types of biocontrol indoors

Условия	Тип биологического контроля	Сезонная колонизация	Массовые выпуски	Превентивная колонизация	
				Суррогатные корма, питательные среды	Популяции лабораторных хозяев/жертв
Исходная плотность вредителя перед выпуском		ниже ЭПВ	выше ЭПВ	вредитель отсутствует	
Норма выпуска		исходя из плотности вредителя до 6 месяцев (полный культуроборот)	на единицу площади	на единицу площади	
Продолжительность защитного эффекта			1–2 недели	2–4 месяца (первая половина культуроборота)	
Саморегуляция в системе «энтомофаг-вредитель»		да	нет	нет	да
Размножение энтомофага в агроценозе		обязательно	не предусмотрено	не предусмотрено	обязательно

### 3.5. Совместное применение энтомофагов и пестицидов

Защита растений от вредителей в промышленных теплицах представляет собой сложную систему мероприятий, которая включает тщательную изоляцию от окружающей среды, мониторинг, колонизацию энтомофагов и применение пестицидов, если это необходимо, для подавления вспышек вредителей или устранения инвазий (van Lenteren et al., 2020). Обработки проводят с использованием микробиологических препаратов и современных химических пестицидов, малотоксичных для полезных беспозвоночных и человека. Гарантированный защитный эффект достигается за счет постоянного совместного действия всех элементов паразитоценоза на популяции вредителей и возбудителей болезней.

Борьба с вредителями в теплицах всегда базировалась на комплексном использовании биологических и химических средств защиты, но в современных условиях актуальность интеграции пестицидов и энтомофагов существенно возросла. Это обусловлено тем, что системы интегрированной защиты растений сильно изменились за последние десятилетия, в основном из-за появления теплиц последнего поколения, а также множества новых сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. Вследствие изменений технологий возделывания растений необходима постоянная корректировка методов и средств контроля вредителей, особенно их резистентных популяций. Требования к эффективности и безопасности пестицидов растут, что обуславливает увеличение масштабов применения энтомофагов.

В предыдущих системах интегрированной защиты растений основой технологии было чередование обработок и выпусков энтомофагов с учетом сроков ожидания, которые определялись персистентностью пестицидов. В наши дни тепличные хозяйства перешли на постоянную колонизацию энтомофагов и широкое применение шмелей-опылителей, что подразумевает постоянное присутствие полезных насекомых и клещей в теплицах. Химические обработки используют эпизодически: при вспышках особо опасных вредителей или появлении инвазионных вредителей. Поэтому необходим повсеместный переход

от последовательного применения пестицидов и энтомофагов к совместному их использованию. Необходимы энтомофаги, выживающие под обработками, чтобы появление нового инвайдера и, как следствие химическая обработка его очагов, не прерывали колонизацию энтомофагов, которые присутствуют в теплицах в течение всего культуроборота.

Следовательно, энтомофаги должны быть отселектированы на резистентность к пестицидам. Эта идея не нова (Croft, Strickler, 1983; Bielza, 2016), но ее реализация в настоящее время приобрела особую актуальность, в основном из-за перехода на постоянную колонизацию энтомофагов и участвовавшие случаи появления инвайдеров, разрушающих чисто биологические системы защиты растений. Найти в короткий срок эффективного энтомофага против нового вредителя весьма затруднительно. Кроме того, надо учитывать требования карантинных служб. Поэтому химическая обработка по очагам нового инвайдера неизбежна. Следовательно, необходимо повысить стрессоустойчивость энтомофагов, в том числе за счет генетически детерминированной резистентности к современным препаратам.

Переход от последовательного к совместному применению энтомофагов и пестицидов это не просто попытка увеличить синергетический эффект от интегрированной защиты растений. На современном этапе развития тепличного растениеводства – это насущная необходимость. Для успешного подавления вредителей в современных теплицах необходимые условия включают постоянное присутствие энтомофагов и возможность безопасного применения пестицидов. Эти условия достижимы, если устойчивость энтомофагов к пестицидам будет как минимум не ниже, чем у вредителей, которые выступают мишенью химических обработок. Следует отметить, что в условиях агроценозов при регулярном использовании пестицидов энтомофаги способны вырабатывать резистентность к обработкам. Известно 38 резистентных популяций энтомофагов, которые сформировались в агроценозах различных сельскохозяйственных культур (преимущественно в садах, реже в теплицах) в результате действия пестицидного пресса (APRD, 2015).

#### 4. Этапы скрининга энтомофагов

В ходе скрининга энтомофагов необходимо ответить на следующие основные вопросы:

1. Способен ли энтомофаг внести значительный вклад в управление популяцией целевых вредителей в условиях агроценозов?

2. Имеются ли негативные побочные эффекты на растения (факультативная фитофагия, перенос вирусов)?

3. Возможно ли рентабельное разведение энтомофага?

4. Имеются ли негативные побочные эффекты на других энтомофагов или насекомых-опылителей, которые используются совместно на одной сельскохозяйственной культуре?

5. Ожидается ли значительное воздействие на нецелевые виды и местные видовые сообщества в целом? Актуально в случае тестирования завозных видов.

6. Возможна ли технологическая совместимость энтомофагов со структурными компонентами агроценоза и техноценоза?

Перечисленные выше вопросы решаются, как правило, параллельно, но все же можно выделить основные этапы скрининга, каждый из которых сфокусирован на отдельных аспектах применения или производства потенциально пригодных видов.

##### 4.1. Первичная оценка биологических особенностей

Первый этап скрининга энтомофагов включает в себя оценку пищевой специализации видов, особенностей их биологии. Основная задача первого этапа – определить целевые виды вредителей, которых новый энтомофаг потенциально может сдерживать (контролировать), а также климатические предпочтения вида.

Дискуссия о преимуществах монофагов по сравнению с многоядными видами продолжается в течение последних 50 лет и затрагивает вопросы регуляторных способностей энтомофагов, их безопасности для местных видовых сообществ, рентабельности при массовом разведении и колонизации. В итоге можно сделать вывод о том, что каждый из вариантов имеет свои преимущества и недостатки. Монофаги относительно безопасны и сфокусированы на целевом объекте, но имеют высокую себестоимость из-за использования вредителей при разведении. Полифаги (в том числе со смешанным питанием – зоофитофаги) легко адаптируются к условиям массового разведения, рентабельны при превентивной колонизации, но при этом уступают монофагам в поисковой активности, скорости и силе функциональной реакции на рост численности вредителя. Кроме того у них больше шансов адаптироваться на местах выпуска (непреднамеренная интродукция), вызывая изменения структуры местных видовых сообществ.

Вопрос, какая пищевая специализация оптимальна (узкая или широкая), не имеет однозначного ответа, да и не требует его. В современных системах защиты растений, которые включают по 10–15 видов агентов биоконтроля, направленных против одного целевого вредителя, найдется место для энтомофагов с разной шириной пищевой специализаций. Было бы неправильно выбрать что-то одно, когда можно и нужно совмещать, при этом учитывая все потенциальные негативные последствия (высокая себестоимость монофагов, внутригрупповое хищничество полифагов, вредоносность зоофитофагов и др.).

Помимо оценки пищевой специализации видов первый этап скрининга включает ряд других исследований, преимущественно фундаментальных. Это – видовая диагностика потенциально пригодных энтомофагов, изучение их морфометрических особенностей, в том числе проявлений полового диморфизма. Следует отметить, что ключевые семейства энтомоакарифагов слабо изучены с точки зрения систематики. Для полноценного освоения биоресурсов необходима таксономическая разработка трудных для определения групп, таких как фитосеидные клещи, галлицы и др. Известны случаи, когда, виды из биоресурсной коллекции ВИЗР были вначале введены в культуру как перспективные агенты биоконтроля, а позднее описаны как новые для науки. Это – галлица клещеедка *Feltiella lubovia* и фитосеидный клещ *Neoseiulus neoagrestis* (Федотова, Козлова, 2019).

Важна оценка генетической гетерогенности исходного биоматериала, отобранного в природной среде, а также формирование стабильной лабораторной популяции (Wajnberg, 2004).

##### 4.2. Возможность рентабельного массового разведения, транспортировки и дозированного внесения

###### 4.2.1. Разведение и хранение

На втором этапе скрининга оценивают возможность использования вида в качестве продуцента средств защиты растений. Без технологии массового разведения невозможно проведение испытаний энтомофага в производственных условиях. Каким бы потенциально эффективным ни был новый вид при лабораторном тестировании (садковые и вегетационные опыты), без производственной апробации мировой рынок средств защиты не примет его. Для современного биологического контроля возможность масштабируемого производства является необходимым условием введения вида в системы биологической защиты растений. В середине 20 века масштаб разведения подавляющего большинства видов был ограничен несколькими тысячами в месяц (van Lenteren et al., 2012, 2018). При этом размножение вида в теплице было обязательным условием его успешного использования (Hajek, Eilenberg, 2018). Теперь подходы к скринингу изменились. В современной ситуации необходимым условием представляется возможность масштабировать производство до уровня миллионов в неделю. Такая смена приоритетов объясняется тем, что основными способами применения энтомофагов в настоящее время выступают превентивная колонизация или наводняющие выпуски, которые требуют регулярного внесения энтомофагов. Следовательно, нужно обеспечить круглогодичную наработку энтомофагов на уровне тысяч гектарных норм в неделю.

Признаки, которыми должен обладать энтомофаг, определяются во многом требованиями биотехнологического производства. Среди ключевых критериев отбора энтомофагов для массового разведения следует упомянуть следующие:

- разведение на заменителях природных кормов (или лабораторном виде-хозяине);
- быстрое увеличение объемов производства;

- разведение круглогодичное (без облигатной паузы и сезонных спадов репродукции);
- возможность краткосрочного и долгосрочного хранения биоматериала.

Для выполнения указанных выше условий отбирают виды, которые отличаются высокой стрессоустойчивостью, значительной скоростью репродукции, расселительными способностями, низким уровнем каннибализма и рядом других поведенческих и экологических особенностей.

Для массового разведения важно сохранение высокой скорости роста популяции и размера особей при высокой плотности (табл. 6).

Необходимые для успешной адаптации признаки зависят во многом от пищевой специализации энтомофага и его образа жизни (хищник или паразитоид, полифаг или специализированный вид). В качестве примера в таблице 6 приведены критерии отбора для паразитоидов семейства Aphidiidae, представляющих собой наиболее востребованную в теплицах группу перепончатокрылых.

**Таблица 6.** Ключевые критерии отбора наездников-афидиид для массового разведения

**Table 6.** Key selection criteria of the *Aphidius* parasitoids for mass rearing

Этапы жизненного цикла	Технологические задачи массового разведения	Требования производства	Видовые признаки паразитоида и хозяина
Спаривание и откладка яиц	Создание оптимальной плотности роя и соотношения полов в садках для откладки яиц. Получение синхронной яйцекладки. Обеспечение оптимальной плотности хозяина (тли) на кормовых растениях (бобы или пшеница). Разреженные колонии хозяина. Отсутствие медвяной росы и капельной влаги на растениях.	3–4 суточная яйцекладка для синхронизации мумификации тлей. Высокая степень заражения хозяина (тлей) на однолетних растениях.	Реализация плодовитости в максимально сжатые сроки. Активная откладка яиц самками при высокой плотности имаго в садке
Эмбриональное и личиночное развитие в теле хозяина	Поддержание кормовых растений в удовлетворительном состоянии до мумификации хозяина. Исключение любых факторов беспокойства хозяина (сильное движение воздуха, например) Оптимизация режимов инкубации зараженных хозяев на кормовых растениях. Поиск оптимального соотношения между скоростью развития паразитоида и размером его имаго	Тля должна оставаться на растениях и продолжать питание до мумификации.	Низкая двигательная активность тлей перед мумификацией.
Окукливание и мумификация хозяина	Разработка технологичного способа отделения мумий от растений.  Разработка упаковки для мумий подбор наполнителя, климатических условий при транспортировке и хранении.	Очищенные мумии как готовый продукт для дозировки и упаковки.  Минимальная смертность при транспортировке и хранении	Высокая выживаемость куколок паразитоида при механическом отделении мумий от растений.  Высокая выживаемость при пониженной температуре
Выход имаго из мумии хозяина	Контроль соотношения полов.	Доля самок не ниже 50%	Стабильное соотношение полов при оптимальных температуре и плотности популяции
На всех этапах жизненного цикла	Подбор климатических условий для круглогодичного разведения	Высокопродуктивное производство независимо от сезона	Гомодинамное (бездиапаузное) развитие

Основой крупномасштабного производства энтомофагов служат коллекции живых культур, расширение которых отмечается как в России, так и за рубежом. Крупнейшая отечественная коллекция сформирована в ВИЗР. В нее входят все ключевые виды энтомофагов, на использовании которых базируются современные системы биологического контроля вредителей (табл. 2). Общий объем коллекции в 2022 году достиг 42 видов энтомофагов, лабораторные (маточные) культуры которых содержат на природном корме или его заменителях при постоянном поддерживающем отборе по ключевым показателям биотического потенциала.

#### 4.2.2. Транспортировка и внесение

Неотъемлемой частью массового разведения являются технологии сбора, упаковки и транспортировки биоматериала, а также оборудование и методические приемы, позволяющие дозированно вносить биоматериал с минимальными трудозатратами. Последнее условие – технологичное внесение – долгое время было одним из лимитирующих факторов в развитии биологического контроля. Долгое время единственным способом внесения был выпуск энтомофагов непосредственно из транспортировочных контейнеров на растения. И по сей день этот прием широко используется для энтомофагов, транспортируемых в сыпучем субстрате (например, клещи фитосейиды,



имаго клопов антокорид). Контейнеры снабжены насадкой типа «солонки» для того, чтобы вносить только хищников, не загрязняя растения сыпучим субстратом. Для паразитоидов широко практикуют внесение на карточках, к которым приклеивают мумии хозяина, содержащие куколок или имаго энтомофагов. При превентивной колонизации практикуют замедленный выпуск, когда открытый контейнер или пакет с биоматериалом закрепляют на растении, и энтомофаги расселяются самостоятельно. Однако все перечисленные варианты внесения требуют огромных трудозатрат (порядка 20 чел./часов на гектар). Революцией в технологиях выпуска стали механизированные средства внесения. Были разработаны автоматизированные распылители, проведена адаптация беспилотных летательных аппаратов для внесения энтомофагов. Следует отметить, что поиск оптимальных путей внесения энтомофагов продолжается, так как до сих пор себестоимость внесения энтомофагов остается высокой, особенно при необходимости обрабатывать сотни тысяч гектар полевых культур, включая сахарный тростник и сою, в таких странах, как Бразилия (Vueno et al. 2020). Для теплиц используют распылители (например, Mini-Airbug Koppert), которые применяются для дозированного внесения, как энтомофагов, так и подкормок для поддержания популяций хищников при превентивном внесении (Brenard et al., 2018; 2019; Dader et al., 2020).

#### 4.3. Масштабные производственные испытания

**Третий этап** начинается после того как разработана технология массового разведения нового вида, что дает возможность нарабатывать его опытно-промышленные партии. Этап включает масштабные долгосрочные испытания вида в разных природно-климатических зонах на разных культурах и сортах сельскохозяйственных растений против целевых вредителей. В ходе испытаний проводят оценку способности нового вида адаптироваться к условиям агроценозов. Оценка затрагивает следующие аспекты применения энтомофагов:

- 1) пригодность гигротермического режима в теплице, микроклиматические условия в зоне обитания (на растениях);
- 2) устойчивость к стрессу при выпуске;
- 3) характер функциональной реакции на целевых вредителей;
- 4) расселительные способности и степень проявления эффекта Олли у выпущенных особей и их потомков (Fauvergue et al., 2012);
- 5) наличие численной реакции на целевых вредителей, интенсивность размножения в агроценозе;
- 6) возможность совместного применения с препаратами: оценка токсичности, персистентности препаратов, расчет сроков ожидания после обработки (подробно этот аспект рассмотрен в разделе 3.5);
- 7) межвидовые связи энтомофага внутри комплекса видов, включенных в системы защиты растений, внутригрупповое хищничество (см. раздел 3.1).

Первое из перечисленных выше условий успешного применения энтомофагов – пригодность микроклиматических условий в теплицах – выполнить несложно. В современных промышленных теплицах гигротермический режим строго регулируется и, как правило, достаточен для нормальной жизнедеятельности энтомофага.

Среднесуточные температуры колеблются в пределах 20–25 °С, что соответствует диапазону оптимальных или субоптимальных температур для большинства используемых видов. Макроклимат в теплицах обеспечивает достаточно высокую двигательную (поисковую) активность и размножение энтомофагов.

Микроклиматические условия, которые определяются анатомическими особенностями растений, варьируют в зависимости от культуры и сорта. Особенно ярко сортовая зависимость проявляется на цветочных культурах в силу их значительного разнообразия. Овощные культуры со значительной биомассой, как правило, обеспечивают энтомофагов оптимальным микроклиматом в зоне обитания (на листьях и цветках).

Устойчивость энтомофагов к стрессу при выпуске в агроценоз относится к одним из необходимых условий для их успешного применения. Однако следует учитывать, что в теплицу энтомофаг попадает не из природной среды, а из техноценоза (биофабрики по массовому разведению). В условиях техноценоза энтомофаг был адаптирован к обилию искусственных материалов, к полному или частичному отсутствию растений, к высокой плотности, которая негативно сказывается на размере имаго и, как следствие, на репродукции. Развитие энтомофага проходило в условиях скученности, но при избытке корма. Попадая в агроценоз, энтомофаг попадает в противоположную ситуацию – избыток пространства, но, как правило, дефицит корма. Кроме того, энтомофаг должен освоить незнакомое для него растение, так как на биофабриках разведение проходит без растения или на других видах.

Важный фактор эффективности энтомофага в теплице – это его пищевое поведение. Особенности функциональной реакции на целевых вредителей выступают в качестве предмета лабораторной оценки на первом этапе скрининга, но это не отменяет необходимости тестирования в производственных условиях. Другой поведенческий признак – расселительные способности – может быть адекватно оценен только в агроценозе. Особый интерес представляет способность особей, выпущенных в агроценоз, находить половых партнеров при низкой плотности популяции. Для преодоления эффекта Олли (затухание популяции из-за низкой плотности) используют партеногенетические виды или выпускают заранее оплодотворенных самок.

Размножение и накопление энтомофагов на местах выпуска представляют собой серьезную предпосылку их высокой эффективности. На современном этапе развития биологического контроля это условие признается достаточным, но более не считается необходимым для подавления вредителя. Ярким примером данного подхода в отборе видов является освоение природных ресурсов многоядных фитосеидных клещей. Эти хищники в подавляющем большинстве случаев не размножаются в тепличных ценозах, но по масштабам их применения фитосейиды занимают одно из первых мест (van Lenteren et al., 2018; Knapp et al., 2018). Удобство применения, технологичность производства и дозировки – все это позволяет использовать наиболее простой (не требующий высокой квалификации исполнителя) и самый надежный, хотя и дорогостоящий способ применения – наводняющие выпуски. При сезонной колонизации всегда есть риск того, что энтомофаг, выпущенный в ограниченном количестве на фоне низкой

численности жертвы, не приступит к активному размножению, и это приведёт к вспышке размножения вредителя. При наводняющих выпусках энтомофага вносятся массового. Как правило, его размножения не происходит. Защитный эффект от выпущенных особей проявляется в течение дней, а не недель (как в случае с сезонной колонизацией). Чаще всего наводнение используют, если система мониторинга не сработала, время уже упущено и, как следствие, вредитель быстро набирает численность. Возможность исправить ошибку без применения пестицидов делает наводняющие выпуски незаменимыми для сельхозпроизводителя. Приведенный выше пример демонстрирует необходимость обеспечивать сельхозпроизводителя энтомофагами пригодными как для колонизации (превентивной и сезонной), так и для наводняющих выпусков. Очевидно, что в зависимости от способа применения требования к энтомофагам будут разными.

#### **4.4. Регламентация применения энтомофагов**

##### **4.4.1. Оценка побочного негативного влияния на местные видовые сообщества**

На завершающем этапе скрининга проводится оценка возможных негативных последствий применения нового вида для местных видовых сообществ, особенно в случае его интродукции как целевой, так и непреднамеренной (Loomans, 2021; Barratt et al., 2021; Paula et al., 2021). Даже если исходно вид признан безопасным, наблюдения за ним продолжаются в течение долгого времени после его первого применения. Мониторинг за новыми видами включает выявление микроэволюционных изменений в популяциях энтомофагов и оценку долгосрочных последствий для биоразнообразия. Эти работы занимают годы и поэтому лежат за пределами собственно скрининга энтомофагов, но остаются неотъемлемой частью программ биологического контроля вредителей.

##### **4.4.2. Нормативная база для применения энтомофагов**

Россия входит в состав межправительственной Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР), которая обеспечивает сотрудничество в области применения средств защиты растений,

в том числе энтомофагов. В 1996 г. была создана экспертная группа ЕОКЗР и Международной организацией по биологической борьбе (МОББ) по регуляции использования агентов биоконтроля. Группой разработаны стандарты, которым рекомендовано следовать при импорте и выпусках энтомофагов, составлен и ежегодно обновляется «Положительный перечень» видов (PM 6 Standards on Safe Use of Biological Control), для которых импорт и выпуск в природу упрощен в виду их экологической безопасности (Orlinski, 2016; Ward, 2016). Группой экспертов ЕОКЗР и МОББ разработаны стандарты безопасного применения завозных видов энтомофагов, интродукции и выпуска в природу новых для региона видов. Оценка завозных энтомофагов должна быть сравнительной и учитывать как риски возможного негативного влияния на нецелевые объекты, так и положительное воздействие энтомофага. Например, в результате колонизации энтомофага численность вредителя сократится, как следствие будут отменены химические обработки, сокращено негативное воздействие пестицидов на окружающую среду, в том числе в части сохранения биоразнообразия (Орлинский, 2018).

Применение экологически безопасных средств защиты растений регламентировано в следующих Федеральных законах: ФЗ №280 «Об органической продукции», 7-ФЗ «Об охране окружающей среды», ФЗ №109 «О безопасном обращении с пестицидами и агрохимикатами», ФЗ № 159 «О получении более качественного урожая с.-х. культур».

Для стандартизации производства энтомофагов на каждый вид (или селекционную линию) должна быть разработана научно-техническая документация, которая включает паспорт на маточную культуру, регламент массового разведения и технические условия, которые включают требования к опытно-промышленным партиям, контроль качества, методы поддерживающего отбора, регламенты применения энтомофагов. В ВИЗР разработаны требования к формированию и сохранению 15 маточных культур, которые выступают в качестве эталона при контроле качества энтомофагов, а также исходным материалом при их крупномасштабном производстве и генетико-селекционном улучшении.

#### **Заключение**

Среди основных факторов, оказывающих кардинальное влияние на современные системы защиты растений, важное место занимают регулярные инвазии новых фитофагов, многие из которых отличаются высокой потенциальной вредоносностью. Традиционный подход к решению проблемы инвайдеров – интродукция специализированных энтомофагов, контролируемых инвайдеров на исходных местах обитания. В программы классического биоконтроля были вовлечены сотни видов-интродуцентов преимущественно из зоны тропиков и субтропиков. Однако в настоящее время дальнейшее развитие классического биоконтроля признано нецелесообразным. Новые программы по интродукции энтомофагов остановлены для того, чтобы защитить местные видовые сообщества от изменений, которые неизбежно приносят интродуценты. Если придерживаться этой достаточно строгой позиции в отношении завозных энтомофагов, то для борьбы с инвайдерами доступными остаются только местные виды, для введения которых в практику защиты растений

необходимо время. Однако полифаги, интродуцированные ранее могут быть полезны особенно на первых этапах инвазии, когда локальные хищники и паразитоиды еще не адаптировались к новому фитофагу. Наличие в ассортименте средств защиты универсальных солдат биоконтроля позволяет при острой необходимости сохранять системы биологической защиты растений даже после вторжения очередного чужеродного вредителя.

При колонизации в теплицах эффективны, как правило, виды, которые быстро реализуют репродуктивный потенциал при внезапно открывшихся возможностях, а именно при появлении очагов вредителя, которые, несмотря на постоянный мониторинг, всегда происходит неожиданно. Быстрое освоение пищевого ресурса важно не только в агроценозах но и при массовом разведении. Поэтому для массового разведения и дальнейшей колонизации в теплицах целесообразно отбирать виды преимущественно с рудеральной (эксплерентной) стратегией.

Виды-рудералы, как правило, полностью уничтожают локальные популяции вредителя за счет того, что в короткий срок производят избыточное потомство, для которого имеющихся пищевых ресурсов заведомо недостаточно. Хищники, разрушающие популяции своих жертв, могут быть весьма эффективны для подавления всплеск размножения вредителей. Однако они не пригодны для долгосрочной регуляции популяции вредителя в агроценозе. Стабильная колонизация энтомофагов возможна, если скорость потребления биомассы в системе хищник-жертва в среднем не превышает скорости прироста популяции жертвы. В этом случае энтомофаги удерживают вредителя на определенном уровне плотности в течение длительного времени. Однако данный уровень не обязательно будет ниже порога ЭПВ, то есть виды из числа «разумных» пользователей пищевых ресурсов необязательно будут эффективны в защите растений.

Очевидно, что использовать целесообразно энтомофагов с разными стратегиями, в том числе по характеру взаимодействия с популяцией жертвы (вредителя). В течение последних 20 лет отбирали преимущественно виды, совмещающие экспрелентную стратегию со стрессоустойчивостью (прежде всего к пищевому стрессу), но в будущем, с нашей точки зрения, предпочтительными будут виды-экспреленты с выраженной заботой о потомстве. Этот сдвиг в критериях скрининга обусловлен ожидаемыми изменениями в применении энтомофагов. Если ранее ключевым способом было превентивное внесение, то на новом

витке развития биоконтроль вернется к сезонной колонизации в очагах вредителя, что предполагает размножение энтомофага в теплице.

Основной причиной возвращения к сезонной колонизации на новом витке развития биологического контроля будет приближающийся технологический переход на качественно новые методы мониторинга, которые обеспечат сверхраннее обнаружение вредителя. Наиболее перспективные направления мониторинга включают использование гиперспектральных камер и самообучающихся нейросетей (Terentev et al., 2022), экспресс-диагностика с использованием молекулярно-генетических методов, синтез биологически активных летучих соединений, которые продуцирует растение для привлечения энтомофагов (Peñaflor et al., 2013; Pérez-Hedo et al., 2021).

Широкое использование дорогостоящей превентивной колонизации, которое мы наблюдаем в настоящее время, обусловлено, прежде всего, слабостью мониторинга в теплицах. При возможности выявлять невидимое глазом присутствие единичных особей вредителя биоконтроль вернется к наиболее естественному и стабильному варианту – сезонной колонизации. При этом речь идет не просто о размножении энтомофагов в теплице, что возможно и на заменителях природного корма, а о взаимодействии энтомофага с популяцией вредителя, что представляется единственным способом достижения долгосрочного контроля на основе биоценотической регуляции.

Исследование выполнено при поддержке РНФ, проект № 20-66-47010.

### Библиографический список (References)

- Белякова НА (2008) Адаптивное значение андроцида в популяциях кокцинеллиды *Harmonia axyridis*. Мат. X межд. научно-практ. экол. конф. «Живые объекты в условиях антропогенного пресса», Белгород, 22–25 сентября 2008. ИПЦ «ПОЛИТЕРРА»: 59–60.
- Белякова НА, Павлюшин ВА (2013) Концепция развития биологической защиты растений. Мат. III Всерос. съезда по защите растений. Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем. Санкт-Петербург, 16–20 декабря 2013. ВИЗР: 7–10
- Белякова НА, Поликарпова ЮБ (2012) Акклиматизация *Harmonia axyridis* Pall. и *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coccinellidae, Coleoptera) на Черноморском побережье Кавказа. *Вестник защиты растений* (4):43–48
- Белякова НА, Поликарпова ЮБ (2014) Энтомофаги в защищенном грунте: новые критерии отбора видов и особенности современных агротехнологий. *Вестник защиты растений* (3):3–10
- Бигон М, Харпер Д, Таунсенд К (1989) Экология. Особи, популяции и сообщества. М.: Мир. (1):667.
- Бондаренко НВ (1986) Биологическая защита растений. М.: Агропромиздат: 278 с.
- Бричук ДН, Антонова-Овсеенко ИЛ (2014) Считаю не тысячами, а гектарами! *Гавриш* (3):34–39
- Гусев ГВ (1991) Энтомофаги колорадского жука. Агропромиздат: 171 с.
- Ижевский СС (1990) Интродукция и применение энтомофагов. Агропромиздат: 223 с.
- Ижевский СС, Ахатов АК (eds) (2004) Защита тепличных и оранжерейных растений от вредителей. Москва, Товарищество научных изданий КМК: 307 с.
- Исмаилов ВЯ, Агасьева ИС, Киль ВИ, Федоренко ЕВ, Нефедова МВ, Беседина ЕН (2019) Биология, фенотипическая и генотипическая структура популяций хищного клопа *Perillus bioculatus* Fabr. (Heteroptera, Pentatomidae) в Краснодарском крае. *Сельскохозяйственная биология* 54(1):110–120
- Каталог выставки «Защищенный грунт России 2022», Москва, 1–3 июня 2022 г. [rusteplica.ru/events/katalog-vystavki-zashhishhennyj-grunt-rossii-2022](http://rusteplica.ru/events/katalog-vystavki-zashhishhennyj-grunt-rossii-2022)
- Козлова ЕГ, Моор ВВ (2012) Применение *Phytoseiulus persimilis* против паутинного клеща на разных сортах роз. *Защита и карантин растений* (12):16–20
- Король ВГ (2020) Особенности использования интерплантинга при выращивании культуры огурца в условиях светокультуры. *Овощи России* (3):3–9
- Король ВГ (2019) Опыление и плодообразование у культуры томата в защищенном грунте. *Овощи России* (4):32–36
- Костюков В, Гунашева З, Наконечная И, Аполонина Т, Кошелева О (2015) Перепончатокрылые паразиты *Tuta absoluta* Meyrick, *Phthorimaea operculella* Zeller (Gelechiidae), *Liriomyza huidobrensis* Blanchard, *L. trifolii* Burgess (Agromyzidae) на юге России. *Protecția plantelor-realizări și perspective* (47):58–64
- Орлинский АД (2018) Применение агентов биологической борьбы в регионе ЕОКРЗ: проблемы и перспективы. *Защита и карантин растений* (10):10–12

- Орлова-Беньковская МЯ (2017) Основные закономерности инвазионного процесса у жесткокрылых (Coleoptera) европейской части России. *Российский журнал биологических инвазий* 10(1):35–56
- Павлюшин ВА (1998) Научные основы использования энтомопатогенов и микробов-антагонистов в фитосанитарной оптимизации тепличных агробиоценозов. *Дисс. ... д.б.н.*. СПб. 66 с.
- Павлюшин ВА, Белякова НА, Фролов АН Новая парадигма защиты растений: важнейшие аспекты реализации. XVI съезд Русского энтомологического общества. Москва, 22–26 августа 2022. Тезисы докладов: 125 с.
- Павлюшин ВА, Воронин КЕ, Красавина ЛП, Асякин БП, Раздобурдин ВА (2001) Использование энтомофагов в биологической защите растений в теплицах России. *Труды Русского энтомологического общества* (72):16–31
- Павлюшин ВА, Красавина ЛП (1986) Патогенность мускардиновых грибов в отношении афидофагов. *Труды Всероссийского энтомологического общества* (68): 7–10.
- Павлюшин ВА, Красавина ЛП (1987) Действие энтомопатогенных грибов на бахчевую тлю и афидофагов в условиях экспериментального заражения. *Бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института защиты растений* (63):7–10
- Попов ДА, Белякова НА (2022) Хищный клоп *Podisus maculiventris*. *Гавриш* (2):22–26
- Abram PK, Moffat CE (2018) Rethinking biological control programs as planned invasions. *Current Opinion in Insect Science* 27:9–15. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.01.011>
- Abrol DP, Mondal A, Shankar U (2021) Importance of bumble bees for crop pollination and food security. *Journal of Palynology* 57:9–37
- Alma CR, Goettel MS, Roitberg BD, Gillespie DR (2007) Combined effects of the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* Apopka-97, and the generalist predator, *Dicyphus hesperus*, on whitefly populations. *BioControl* 52:669–681
- APRD (2015) Arthropod Pesticide Resistance Database, Michigan State University. <http://www.pesticideresistance.org>
- Barratt BIP, Colmenarez YC, Day MD, Ivey P et al (2021) Regulatory challenges for biological control. In: Mason PG (ed) *Biological control: global impacts, challenges and future directions of pest management*. CSIRO: Clayton South, Australia. 166–196
- Begon M, Harper J, Townsend C (1986) *Ecology. Individuals, populations and communities*. Sunderland: Blackwell scientific publications. 667 p.
- Bielza P, Balanza V, Cifuentes D and Mendoza JE (2020) Challenges facing arthropod biological control: identifying traits for genetic improvement of predators in protected crops. *Pest Manag Sci* 76:3517–3526. <https://doi.org/10.1002/ps.5857>
- Bielza P (2016) Insecticide resistance in natural enemies. In: Horowitz AR, Ishaaya I (eds) *Advances in insect control and resistance management*. Switzerland: Springer. 313–329. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31800-4\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31800-4_16)
- Bout A, Ris N, Multeau C, Mailleret L (2022) Augmentative biological control using entomophagous arthropods. In: Fauvergue X et al (eds) *Extended Biocontrol*. Dordrecht: Springer. 43–53. [https://doi.org/10.1007/978-94-024-2150-7\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-024-2150-7_4)
- Brenard N, Sluydts V, Christianen E, Bosmans L, De Bruyn L, Moerkens R, Leirs H (2019) Biweekly supplementation with *Artemia* spp. cysts allows efficient population establishment by *Macrolophus pygmaeus* in sweet pepper. *Entomol Exp Appl* 167:406–414. <https://doi.org/10.1111/eea.12776>
- Brenard N, Sluydts V, De Bruyn L, Leirs H, Moerkens R (2018) Food supplementation to optimize inoculative release of the predatory bug *Macrolophus pygmaeus* in sweet pepper. *Entomol Exp Appl* 166:574–582. <https://doi.org/10.1111/eea.12704>
- Brødsgaard HF (1995) “Keep-down,” a concept of thrips biological control in ornamental pot plants. *Thrips biology and management*. Springer. Boston. MA 276:221–224. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1409-5\\_32](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1409-5_32)
- Bueno VHP, Parra JRP, Bettiol W, van Lenteren JC (2020) Biological control in Brazil. In: van Lenteren JC et al. (eds) *Biological Control in Latin America and the Caribbean: its rich history and bright future*. Wallingford: CAB International. 78–107
- Buitenhuis R, Shipp L, Scott-Dupree C (2010) Dispersal of *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) on potted greenhouse chrysanthemum. *Biol Control* 52:110–114. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.03.010>
- Calvo FJ, Knapp M, van Houten YM, Hoogerbrugge H, Belda JE (2015) *Amblyseius swirskii*: What made this predatory mite such a successful biocontrol agent? *Exp Appl Acarol* 65:419–433. <http://doi.org/10.1007/s10493-014-9873-0>
- Cock MJW, Murphy ST, Kairo MTK, Thompson E, Murphy RJ, Francis AW (2016) Trends in the classical biological control of insect pests by insects: An update of the BIOCAT database. *BioControl* 61(4):349–363
- Cock MJW, van Lenteren JC, Brodeur J, Barratt BIP, Bigler F, Bolckmans K, Cònsoli FL, Haas F, Mason PG, Parra JRP (2010) Do new access and benefit sharing procedures under the Convention on Biological Diversity threaten the future of biological control? *BioControl* 55(2):199–218
- Collier T, van Steenwyk R (2004) A critical evaluation of augmentative biological control. *Biol Control* 31:245–256. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.05.001>
- Croft BA, Strickler K (1983) *Natural Enemy Resistance to Pesticides: Documentation, Characterization, Theory and Application*. In: Georghiou GP, Saito T (eds) *Pest Resistance to Pesticides*. Boston: Springer. 669–702. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4466-7\\_29](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4466-7_29)
- Dáder B, Colomer I, Adán Á, Medina P, Vinuela E (2020) Compatibility of early natural enemy introductions in commercial pepper and tomato greenhouses with repeated pesticide applications. *Insect Sci* 27(5):1111–1124. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12723>
- Daughtrey M, Buitenhuis R (2020) Integrated pest and disease management in greenhouse ornamentals. *Integrated pest and disease management in greenhouse crops. Plant Pathol* 21st 9:625–679. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-22304-5\\_22](https://doi.org/10.1007/978-3-030-22304-5_22)
- De Clercq P (2000) *Predaceous Stinkbugs (Pentatomidae: Asopinae)*. In: Schaefer CW, Panizzi AR (eds) *Heteroptera of economic importance*. Boca Raton: CRC Press 54 p.
- De Clercq P, Merlevede F, Mestdagh I, Vandendurpel K, Mohaghegh J, Degheele D (1998) Predation on the tomato looper *Chrysodeixis chalcites* Esper (Lep.: Noctuidae) by

- Podisus maculiventris* Say and *Podisus nigrispinus* Dallas (Het.: Pentatomidae). *J Appl Entomol* 122:93–98
- Dolgikh PP, Parshukov DV, Shaporova ZE (2019) Technology for managing thermal energy flows in industrial greenhouses. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering IOP Publishing. 537(6):062041. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/537/6/062041>
- Dong J, Guo XH, Yue J, Yin Z, Qiao Y, Zhang LJ, Jin XH (2011) Study on predatory function of *Amblyseius pseudolongispinosus* to *Tetranychus cinnabarinus*. *China Plant Prot* 31(3):8–11
- Donka A, Sermann H, Buttner C (2008) Effect of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* as a non-target organism. *Commun Agri Appl Biol Sci* 73(3):395–403
- Down RE, Bell HA, Matthews HJ, Kirkbride-Smith AE, Edwards JP (2004) Dissemination of the biocontrol agent *Vairimorpha necatrix* by the spined soldier bug, *Podisus maculiventris*. *Entomol Exp Appl* 110(2):103–114. <https://doi.org/10.1111/j.0013-8703.2004.00122.x>
- Down RE, Cuthbertson AGS, Mathers JJ, Walters KFA (2009) Dissemination of the entomopathogenic fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by the predatory bug, *Orius laevigatus*, to provide concurrent control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*. *Biol Control* 50(2):172–178. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.03.010>
- Eilenberg J, Hajek A, Lomer C (2001) Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46(4):387–400. <https://doi.org/10.1023/A:1014193329979>
- Eilenberg J, Hokkanen HMT (2006) Concepts and visions of biological control. In: An ecological and societal approach to biological control. Springer. Dordrecht. 1–11. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4401-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4401-4_1)
- Enkegaard A, Brødsgaard HF (2006) Biocontrol in protected crops: is lack of biodiversity a limiting factor? In: Hokkanen H, Gao Y (eds) Progress in Biological Control. Springer. Dordrecht. 2:91–112
- Erbilgin N, Dahlsten DL, Chen PY (2004) Intraguild interactions between generalist predators and an introduced parasitoid of *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psylloidea). *Biol Control* 31(3): 329–337. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.06.010>
- Fauvergue X, Vercken E, Malausa T, Hufbauer R (2012) The biology of small, introduced populations, with special reference to biological control. *Evol Appl* 5(5):424–443. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2012.00272.x>
- Finke DL, Denno RF (2006) Spatial refuge from intraguild predation: implications for prey suppression and trophic cascades. *Oecologia* 149:265–275
- Ghoneim K (2014) Predatory insects and arachnids as potential biological control agents against the invasive tomato leafminer, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae), in perspective and prospective. *J Entomol Zool Stud* 2(2):52–71
- Grime JP, Pierce S (2012) The evolutionary strategies that shape ecosystems. John Wiley & Sons, Ltd. 240 p. <https://doi.org/10.1002/9781118223246>
- Gullino LM, Wardlow LR (1999) Ornamentals. Integrated pest and disease management in greenhouse crops. Springer. Dordrecht. 486–505
- Hajek AE, Hurley BP, Kenis M, Garnas JR et al (2016) Exotic biological control agents: A solution or contribution to arthropod invasions? *Biol Invasions* 18:953–969. <https://doi.org/10.1007/s10530-016-1075-8>
- Hajek AE, Eilenberg J (2018) Natural Enemies. In: An Introduction to Biological Control. Cambridge: Cambridge University Press. 452 p.
- Havelka J, Kindlmann P (1984) Optimal use of the “pest in first” method for controlling *Tetranychus urticae* Koch (Acarina, Tetranychidae) on glasshouse cucumbers through *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acarina, Phytoseiidae). *Z Angew Entomol* 98(5):254–263. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1984.tb02710.x>
- Heimpel GE, Mills NJ (2017) Biological Control. In: Ecology and Applications. Cambridge: Cambridge University Press. 380 p. <https://doi.org/10.1017/9781139029117>
- Hoelmer KA (2022) Can selection of biological control agents be improved to decrease the risk of releasing ineffective agents? Int. Congress of Entomology. Helsinki 164.
- Hu ZY, Zhi JR, Xiong JW (2007) Predatory impact of *Amblyseius nicholis* to *Tetranychus urticae*. *J Anhui Agric Sci* 35(15):4556–4557
- Huang N, Enkegaard A, Osborne LS, Ramakers PMJ et al (2011) The banker plant method in biological control. *CRC Crit Rev Plant Sci* 30(3):259–278. <https://doi.org/10.1080/07352689.2011.572055>
- Hunter C (1997) Suppliers of Beneficial Organisms in North America California. Department of Pesticide Regulation. Sacramento. California. 35 p.
- Kevan PG, Shipp L, Smagghe G (2020) Ecological intensification: Managing biocomplexity and biodiversity in agriculture through pollinators, pollination and deploying biocontrol agents against crop and pollinator diseases, pests and parasites. In: Guy Smagghe et al (eds) Entomovectoring for Precision Biocontrol and Enhanced Pollination of Crops. Springer Cham. 19–51. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-18917-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-18917-4_2)
- Knapp M, van Houten Y, van Baal E, Groot T (2018) Use of predatory mites in commercial biocontrol: Current status and future prospects. *Acarologia* 58 (Suppl):72–82. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184275>
- Kumar B, Mishra G, Omkar (2014) Functional response and predatory interactions within conspecific and heterospecific guilds of two congeneric species (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur J Entomol* 111 (2):257–265. <https://doi.org/10.14411/eje.2014.025>
- Kumar V, Xiao Y, McKenzie CL, Osborne LS (2015) Early establishment of the phytoseiid mite *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) on pepper seedlings in a Predator-in-First approach. *Exp Appl Acarol* 65:465–481. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-9895-2>
- Lambert L, Chouffot T, Tureotte G, Lemieux M, Moreau J (2005) Biological control of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) on interplanted tomato crops with and without supplemental lighting using *Dicyphus hesperus* (Quebec, Canada). *IOBC/WPRS Bull* 28:175–178
- Lanzoni A, Martelli R, Pezzi F (2017) Mechanical release of *Phytoseiulus persimilis* and *Amblyseius swirskii* on protected crops. *Bull Insectology* 70:245–250
- Letourneau DK, Jedlicka JA, Bothwell SG, Moreno CR (2009) Effects of natural enemy biodiversity on the suppression of

- arthropod herbivores in terrestrial ecosystems. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 40(1):573–592. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120320>
- Loomans AJ (2021) Every generalist biological control agent requires a special risk assessment. *BioControl* 66(1):23–35
- Messelink GJ, Bennison J, Alomar O, Ingegno BL et al (2014) Approaches to conserving natural enemy populations in greenhouse crops: Current methods and future prospects. *BioControl* 59 (4):377–393. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9579-6>
- Messelink GJ, Bloemhard CMJ, Sabelis MW, Janssen A (2013) Biological control of aphids in the presence of thrips and their enemies. *BioControl* 58:45–55. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9462-2>
- Messelink GJ, van Maanen R, van Steenpaal SEF, Janssen A (2008) Biological control of thrips and whiteflies by a shared predator: two pests are better than one. *BioControl* 44(3):372–379. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.017>
- Meurisse N, Marcot BG, Woodberry O, Barratt BI, Todd JH (2022) Risk analysis frameworks used in biological control and introduction of a novel Bayesian network tool. *Risk Anal* 42(6):1255–1276. <https://doi.org/10.1111/risa.13812>
- Mills N (2006) Interspecific competition among natural enemies and single versus multiple introductions in biological control. In: *Trophic and Guild in Biological Interactions Control*. Springer. 191–220. [https://doi.org/10.1007/1-4020-4767-3\\_9](https://doi.org/10.1007/1-4020-4767-3_9)
- Mommaerts V, Smaghe G (2011) Entomovectoring in plant protection. *Arthropod Plant Interact* 5(2):81–95. <https://doi.org/10.1007/s11829-011-9123-x>
- Nayak RK, Rana K, Bairwa VK, Singh P, Bharthi VD (2020) A review on role of bumblebee pollination in fruits and vegetables. *J Pharmacogn Phytotherapy* 9(3):1328–1334. <https://doi.org/10.22271/phyto.2020.v9.i3v.11494>
- Omkar, Mishra G, Kumar B, Singh N, Pandey G (2014) Risks associated with tandem release of large and small ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) in heterospecific aphidophagous guilds. *Can Entomologist* 146(1):52–66
- Opit GP, Nechols JR, Margolies DC, Williams KA (2005) Survival, horizontal distribution, and economics of releasing predatory mites (Acari: Phytoseiidae) using mechanical blowers. *Biol Control* 33(3):344–351. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.03.010>
- Orlinski AD (2016) Work of the EPPO/IOBC Panel on biological control agents. *Bull. OEPP* 46(2):243–248. <https://doi.org/10.1111/epp.12309>
- Papa R, Manetto G, Cerruto E, Failla S (2018) Mechanical distribution of beneficial arthropods in greenhouse and open field: A review. *J Agric Eng* 49(2):81–91. <https://doi.org/10.4081/jae.2018.785>
- Paula DP, Andow DA, Barratt BIP, Pfannenstiel RS et al (2021) Integrating adverse effect analysis into environmental risk assessment for exotic generalist arthropod biological control agents: a three-tiered framework. *BioControl* 66:113–139. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-10053-8>
- Payton MTL, Rebek EJ (2018) Banker plants for aphid biological control in greenhouses. *J Integr Pest Manag* 9(1):9–15. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmy002>
- Peñaflor MFG, Bento JMS (2013) Herbivore-induced plant volatiles to enhance biological control in agriculture. *Neotrop Entomol* 42(4):331–343. <https://doi.org/10.1007/s13744-013-0147-z>
- Pérez-Hedo M, Alonso-Valiente M, Vacas S, Gallego C et al (2021) Plant exposure to herbivore-induced plant volatiles: a sustainable approach through eliciting plant defenses. *J Pest Sci* 94(4):1221–1235. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01334-x>
- Pijnakker J, Vangansbeke D, Duarte M, Moerkens R, Wäckers FL (2020) Predators and parasitoids-in-first: From inundative releases to preventative biological control in greenhouse crops. *Front Sustain Food Syst* 4:595630. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.595630>
- Pilkington LJ, Messelink G, van Lenteren JC, Le Mottee K (2010) “Protected Biological Control”–Biological pest management in the greenhouse industry. *Biol Control* 52(3):216–220. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.022>
- Poletti M, Omoto C (2012) Susceptibility to deltamethrin in the predatory mites *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) populations in protected ornamental crops in Brazil. *Exp Appl Acarol* (58):385–393. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9588-z>
- Ramakers PMJ (1990) Manipulation of phytoseiid thrips predators in the absence of thrips. *IOBC/WPRS Bull* 13(5):169–172
- Rosenheim JA, Kaya HK, Ehler LE, Marois JJ, Jaffee BA (1995) Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. *Biol control* 5(3):303–335
- Rosenheim JA (2005) Intraguild predation of *Orius tristicolor* by *Geocoris* spp. and the paradox of irruptive spider mite dynamics in California cotton. *Biol Control* 32:172–179
- Schausberger P (2003) Cannibalism among phytoseiid mites: a review. *Exp Appl Acarol* 29(3–4):173–191. <https://doi.org/10.1023/a:1025839206394>
- Schmidt JM, Crist TO, Wrinn K, Rypstra AL (2014) Predator interference alters foraging behavior of a generalist predatory arthropod. *Oecologia* 175(2):501–508. <https://doi.org/10.1007/s00442-014-2922-x>
- Snyder WE, Ives AR (2001) Generalist predators disrupt biological control by specialist parasitoid. *Ecology* 82(3):705–716. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[0705:GPDBC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[0705:GPDBC]2.0.CO;2)
- Terentev A, Dolzhenko V, Fedotov A, Eremenko D (2022) Current state of hyperspectral remote sensing for early plant disease detection: a review. *Sensors* 22(3):757–767. <https://doi.org/10.3390/s22030757>
- Torres JB, Evangelista WS, Jr Barras R, Guedes RNC (2002) Dispersal of *Podisus nigrispinus* (Het.: Pentatomidae) nymphs preying on tomato leafminer: effect of predator release time, density and satiation level. *J Appl Entomol* 126:326–332
- Truffault V, Le Quillec S, Brajeul E (2018) Insights into the potential of semi-closed greenhouses and future perspectives for tomato crops. *Acta Hort* 1227:141–150. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2018.1227.17>
- van Lenteren JC (2000) Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. *Biol Control: Measures of Success* 77–103
- van Lenteren JC, Bale J, Bigler F, Hokkanen H, Loomans A (2006) Assessing risks of releasing exotic biological control

- agents of arthropod pests. *Annu Rev Entomol* 51:609–634. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151129>
- van Lenteren JC, Bueno VHP, Klapwijk JN (2021) Augmentative biological control. *Biol control: global impacts, challenges and future directions of pest management* 90–109
- van Lenteren JC (2003) Commercial availability of biological control agents. In: *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. CABI Publishing, Wallingford UK. 167–179
- van Lenteren JC (2012) The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Biocontrol* 57(1):1–20. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>
- van Lenteren JC, Alomar O, Ravensberg WJ, Urbaneja A (2020) Integrated pest and disease management in greenhouse crops. In: Gullino ML et al (eds) *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Plant Pathology in the 21st Century, Springer, International Cham. 409–439. [http://doi.org/10.1007/978-3-030-22304-5\\_14](http://doi.org/10.1007/978-3-030-22304-5_14)
- van Lenteren JC, Bolckmans K, Kohl J, Ravensberg WJ, Urbaneja A (2018) Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *Biocontrol* 63:39–59. <http://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4>
- van Lenteren JC (2007) Biological control for insect pests in greenhouses: an unexpected success. *Biological control: a global perspective*. CAB Int, Wallingford. 105–117. <http://doi.org/10.1079/9781845932657.0105>
- Wade MR, Zalucki MP, Wratten SD, Robinson KA (2008) Conservation biological control of arthropods using artificial food sprays: current status and future challenges. *Biol Control* 45(2):185–199. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.024>
- Wajnberg E (2004) Measuring genetic variation in natural enemies used for biological control: why and how? *Genetics, Evolution and Biological Control*. CABI International. Wallingford. UK. 19–37. <http://doi.org/10.1079/9780851997353.0019>
- Wang ZZ, Liu YQ, Min SHI, Huang JH, Chen XX (2019) Parasitoid wasps as effective biological control agents. *J Integr Agric* 18(4):705–715. [http://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62078-7](http://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62078-7)
- Wang YP, Lv F, Wang ZP (2007) Progress of *Harmonia axyridis* (Pallas) utilization. *Entomol J East China* 16:310–314
- Ward M (2016) Conclusions from the workshop on evaluation and regulation of biological control agents. *EPPO Bull* 46(2):239–242
- Warner KD, Getz C (2008) A socio-economic analysis of the North American commercial natural enemy industry and implications for augmentative biological control. *Biol Control* 45(1):1–10
- Yang NW, Zang LS, Wang S, Guo JY, Xu HX, Zhang F, Wan FH (2014) Biological pest management by predators and parasitoids in the greenhouse vegetables in China. *Biol Control* 68:92–102. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.06.012>
- Yano E, Abe J, Hemerik L (2018) Evaluation of pest control efficiencies for different banker plant systems with a simple predator–prey model. *Pop Ecol* 60(4):389–396. <https://doi.org/10.1007/s10144-018-0636-3>
- Zhao HM, Yi X, Deng YY, Hu MY et al (2013) Resistance to fenpropathrin, chlorpyrifos and abamectin in different populations of *Amblyseius longispinosus* (Acari: Phytoseiidae) from vegetable crops in South China. *Biol Control* (67):61–65. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.007>
- Zhu H, Kim JJ (2012) Target-oriented dissemination of *Beauveria bassiana* conidia by the predators, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) for biocontrol of *Myzus persicae*. *Biocontrol Sci Tech* 22:393–406. <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.661843>

#### Translation of Russian References

- Belyakova NA (2008) [Androcidal microorganisms – the basis of safe technologies for the use of introduced coccinellids in plant protection]. Proc. X Int. Conf. «Living objects in the conditions of anthropogenic pressure», Belgorod, 22–25 September 2008. IPC «Politerra»: 59–60 (In Russian)
- Belyakova NA, Pavlyushin VA (2013) [The development concept of biological plant protection]. Proc. III All-Russian Plant Protection Congress “Phytosanitary optimization of agroecosystems”, St.-Petersburg, 16–20 December 2013. VIZR. 7–10. (In Russian)
- Belyakova NA, Polikarpova YuB (2012) [Acclimatization of *Harmonia axyridis* Pall. and *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coccinellidae, Coleoptera) on the Black Sea Coast of the Caucasus]. *Vestnik zashity rastenii* (4):43–48. (In Russian)
- Belyakova NA, Polikarpova YuB (2014) [Entomophages in greenhouses: new screening criteria for species choice and features of modern agricultural technologies]. *Vestnik zashity rastenii* (3):3–10. (In Russian)
- Bondarenko NV (1986) [Biological plant protection]. Moscow.: Agropromisdat. 278 p. (In Russian)
- Birchuk DN, Antonova-Ovseenko IL (2014) [Count not in thousands, but in hectares!] *Gavrish* (3):34–39 (In Russian)
- Gusev GV (1991) [Natural enemies of the Colorado potato beetle]. Moscow: Agropromisdat. 171 p. (In Russian)
- Izhevsky SS (1990) [Introduction and application of natural enemies]. Moscow: Agropromisdat. 223 p. (In Russian)
- Izhevsky SS, Akhatov AK (eds) (2004) [Greenhouses plant protection against pests]. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh isdanii KMK. 307 p. (In Russian)
- Ismailov VY, Agas’eva IS, Kil VI, Fedorenko EV, Nefedova MV, Besedina EN (2019) [Biological characterization, phenotypic and genotypic structure of predatory stinkbug *Perillus bioculatus* Fabr. (Heteroptera, Pentatomidae) population in Krasnodar region]. *Sel’skokhozyaistvennaya biologiya* 54(1):110–120 (In Russian)
- Exhibition catalog «Greenhouses of Russia 2022», Moscow, 1–3 June 2022. [rusteplica.ru/events/katalog-vystavki-zashhishhenyj-grunt-rossii-2022](http://rusteplica.ru/events/katalog-vystavki-zashhishhenyj-grunt-rossii-2022) (07.04.2022) (In Russian)
- Kozlova EG, Moor VV (2012) [Application of *Phytoseiulus persimilis* against *Tetranychus urticae* on various rose varieties]. *Zaschita i karantin rasteniy* (12):16–20 (In Russian)
- Korol VG (2020) [Features of the use of inter-planting in the cultivation of cucumber culture under light culture conditions]. *Ovoschi Rossii* (3):3–9 (In Russian)

- Korol VG (2019) [Pollination and fruit formation in tomato culture indoor]. *Ovoschi Rossii* (4):32–36 (In Russian)
- Kostyukov V, Gunasheva Z, Nakonechnaya I, Apolonina T, Kosheleva O (2015) [Hymenoptera parasitoids of *Tuta absoluta* Meyrick, *Phthorimaea operculella* Zeller (Gelechiidae), *Liriomyza huidobrensis* Blanchard, *L. trifolii* Burgess (Agromyzidae) in the South of Russia]. *Protecția plantelor-realizări și perspective* (47):58–64 (In Russian)
- Orlinskii OD (2018) [The use of biological control agents in the EPPO region: problems and prospects]. *Zaschita i karantin rasteniy* (10):10–12 (In Russian)
- Orlova-Ben'kovskaya MY (2017) [Main patterns of the invasive process in beetles (Coleoptera) of the European part of Russia]. *Russian Journal of Biological Invasions* 10(1):35–56 (In Russian)
- Pavlyushin VA (1998) [Scientific foundation of entomopathogenic and antagonist microbes application in the phytosanitary stability of agrobiocenoses indoors]. *Diss. Dr. Biol. Sci.* St. Petersburg: VIZR. 66 p. (In Russian)
- Pavlyushin VA, Belyakova NA, Frolov AN (2022) [The new plant protection paradigm: key implementation aspects]. *Proc. XVI Congr. Russ. Entomol. Soc. Moscow*, 22–26 August 2022. 125. (In Russian)
- Pavlyushin VA, Voronin KE, Krasavina LP, Asyakin BP, Razdoburdin BL (2001) [Natural enemies application in biological control in greenhouses in Russia]. *Proceedings of the Russian Entomological Society* (72):16–31 (In Russian)
- Pavlyushin VA, Krasavina LP (1986) [Pathogenicity of muscardine fungi in relation to aphidophages]. *Proceedings of the All-Union Entomological Society* (68):7–10 (In Russian)
- Pavlyushin VA, Krasavina LP (1987) The effect of entomopathogenic fungi on melon aphids and aphidophages under conditions of experimental infection. *Bulletin of the All-Union Research Institute of Plant Protection* (63):7–10 (In Russian)
- Popov DA, Belyakova NA (2022) Predatory bug *Podisus maculiventris*. *Gavrish* (2):22–26 (In Russian)

Plant Protection News, 2023, 106(1), p. 49–70

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology) & 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2023-106-1-15533>

**Full-text review**

## SCREENING INSECTS AND MITES FOR BIOLOGICAL CONTROL OF PESTS IN GREENHOUSES

N.A. Belyakova\*, V.A. Pavlyushin

*All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia*

\*corresponding author, e-mail: [biocontrol@vizr.spb.ru](mailto:biocontrol@vizr.spb.ru)

Modern agricultural technologies in cause complications in screening of natural enemies for greenhouse use because of the increasing demands for their adaptability, feasibility of their mass production, and ability to withstand long-term storage and transportation. To be effective in greenhouses, species must start breeding as quickly as possible once pest populations first appear. These predators, as a rule, produce more offspring than food resources allows. So they destroy their prey populations and can therefore be highly effective in suppressing pest outbreaks, at least in the short term. For long-term stability in predator-prey system, the biomass consumption should not exceed the growth rate of the prey population. In this case, natural enemies can keep the pest density constant for a long time. However, the level of pest density will not necessarily be below the EIL, i.e. species which “reasonable” use food resources will not necessarily be effective in plant protection. Regular invasions of new herbivores also have an impact on plant protection systems. At the same time, programs for the introduction of new natural enemies are scrutinized due to the potential negative impact of the introduced species on the biodiversity of indigenous species communities. This review analyses changes in screening of natural enemies that resulted from the introduction of new crop production technologies and the complications of the present-day phytosanitary situation.

**Keywords:** natural enemies, preventive release, inoculation, classical biocontrol, life strategies, mass rearing, resistance

Submitted: 11.11.2022

Accepted: 07.04.2022



**ПРАКТИЧЕСКИЙ ОПЫТ РАЗВЕДЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ХИЩНОГО КЛОПА  
*PODISUS MACULIVENTRIS* В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ****И.В. Андреева<sup>1,2\*</sup>, В.П. Цветкова<sup>2</sup>, Н.И. Агриколянская<sup>1</sup>, В.С. Масленникова<sup>2</sup>,  
Е.И. Шаталова<sup>1,2</sup>, А.А. Зенкова<sup>2</sup>**<sup>1</sup>Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук,  
п. Краснообск, Новосибирская обл.<sup>2</sup>Новосибирский государственный аграрный университет, г. Новосибирск

\* ответственный за переписку, e-mail: iva2008@ngs.ru

Хищный клоп подизус *Podisus maculiventris* – многоядный энтомофаг, перспективный для использования в мероприятиях по биологической защите картофеля от колорадского жука в Западной Сибири. Совершенствование и адаптация к условиям региона технологий разведения и применения подизуса целесообразны для сокращения экономических затрат на его перевозку и массовую наработку. В лабораторных условиях выявлена эффективность использования разных видов жертв (личинок большой вошинной огневки, капустной моли, большого мучного хрущака и виковой тли) для поддержания высоких показателей производительности маточной культуры хищного клопа. При смешанном питании наблюдалась высокая выживаемость личинок энтомофага, количество имаго следующего поколения составляло в среднем 78% от первоначальной численности, увеличивались масса самок и самцов до 75 и 56 мг, соответственно, плодовитость составила 540 яиц на 1 самку. В лабораторных условиях прожорливость хищника варьировала от 1.8 до 8.4 особей колорадского жука в зависимости от стадии развития энтомофага и возраста личинок вредителя. В результате трехлетних полевых испытаний (2018–2020 гг.) на картофеле сорта Юна биологическая эффективность энтомофага против колорадского жука составляла от 66 до 85%, а при совместном использовании хищного клопа и биопрепарата Битоксибациллин увеличивалась до 98.5%. В 2020 г. эффективность энтомофага при выпуске в соотношении хищник-жертва – 1:5.0–6.5 на разных сортах картофеля составляла 63–75%.

**Ключевые слова:** колорадский жук, хищный клоп, энтомофаг, лабораторная культура, биотический потенциал, смешанный корм, прожорливость, биологическая эффективность

Поступила в редакцию: 10.01.2023

Принята к печати: 10.03.2023

**Введение**

Использование энтомофагов для контроля численности вредителей в России становится все более популярным мероприятием защиты сельскохозяйственных растений не только в условиях теплиц, но и в агроценозах открытого грунта (Коваленков, 2015; Агасьева и др., 2017а; Комарова и др., 2021). В Сибири, не смотря на климатические особенности зоны, оказывающие значительное влияние на эффективность биологических средств, интерес к изучению и практическому применению энтомофагов постоянно возрастает, они становятся все более востребованными (Андреева и др., 2016). С одной стороны, потенциал местных видов насекомых-энтомофагов недостаточно изучен и практически не реализован, что предполагает необходимость проведения исследования в данном направлении. С другой стороны, перспективным представляется изучение возможности использования интродуцированных видов биологических агентов для регуляции численности таких же, завезенных и обосновавшихся в регионе фитофагов.

Так, фитосанитарная ситуация в агроценозах картофельного поля осложняется вредоносностью колорадского жука, который, начиная с 2000-х годов перестал быть карантинным вредителем на территории Западной Сибири (Цветкова и др., 2010; Малюга и др., 2011). Для борьбы с фитофагом широко используются химические

инсектициды, преимущественно из группы неоникотиноидов и пиретроидов, а также биологические препараты бактериального происхождения и на основе метаболитов микроорганизмов – Битоксибациллин, П, Инсектобакте-рин, СП, Фитоверм, КЭ (Каталог пестицидов и агрохимикатов..., 2022). Однако, при разработке систем защиты растений от вредных для растений видов, необходимо учитывать региональный аспект, включающий особенности технологии возделывания сельскохозяйственной культуры, сортовой ассортимент, погодно-климатические условия, популяционный состав вредителей и прочие факторы, способные оказать существенное влияние на результативность проводимых защитных мероприятий, особенно на эффективность биологических средств.

Хищный клоп подизус *Podisus maculiventris* Say, интродуцированный в нашу страну для биологического контроля колорадского жука, является многоядным видом и признан перспективным для использования и против других вредителей (Ахатов, 2016; De Clercq et al., 2002; Desurmont, Weston, 2008). Этот вид хорошо изучен, разработаны технологии его разведения и применения, в частности, в условиях Краснодарского края (Агасьева и др., 2017б; Нефедова, 2017; Нефедова, Агасьева, 2019). Перспективы использования подизуса для регуляции

численности колорадского жука в Сибири предполагают массовое разведение энтомофага на базе региональных биологических лабораторий (территориально близко расположенных к месту выпуска), т.к. перевозка живого материала из Европейской части страны экономически не целесообразна. Не менее важен и экологический аспект применения энтомофага, касающийся охраны окружающей среды и здоровья населения в регионе со сложными погодными условиями. Следует отметить, что в Сибири, и в Новосибирской области, в частности, ежегодно увеличивается площадь пахотных земель, отводимых под органическое земледелие, поэтому актуальность использования энтомофагов в целях защиты растений от вредителей

будет неуклонно возрастать. В связи с этим, актуальны исследования по адаптации и совершенствованию элементов технологий разведения подизуса, а также изучение эффективности применения хищного клопа против местных популяций колорадского жука и возможности совместного использования с биопрепаратами.

В связи с этим, в задачи исследований входило совершенствование отдельных элементов технологии разведения хищного клопа подизуса для поддержания высоких показателей маточной культуры и первичная оценка принципиальной возможности использования энтомофага против колорадского жука в полевых условиях Западной Сибири.

### Материалы и методы

Исследования проводили с лабораторными, лабораторно-полевыми культурами и естественными популяциями насекомых. Лабораторная культура подизуса (*Podisus maculiventris* Say) получена для проведения научных работ из коллекции Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ВИЗР) и с 2016 года содержится в лабораториях «Разведения энтомоакарифагов» Новосибирского государственного аграрного университета (НГАУ) и «Биологического контроля фитофагов и фитопатогенов» Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий (СФНЦА РАН).

В экспериментах по культивированию энтомофага были использованы лабораторные культуры насекомых-фитофагов, служащих в качестве кормового субстрата для подизуса – большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* L., виковой тли *Megaura viciae* Buckt., капустной моли *Plutella xylostella* L., большой вошинной огневки *Galleria melonella* L. (из коллекции СФНЦА). Разведение насекомых осуществляли по общепринятым и адаптированным к условиям лаборатории методикам (Бондаренко, Воронова, 1989; Асякин и др., 2001; Штерншис и др., 2006; Березин и др., 2008; Коновалова, 2009) и оригинальным методам (Андреева и др., 2020). Для определения прожорливости хищного клопа использовали лабораторно-полевыми культуру колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say). В агроценозе картофельного поля биологические средства подизуса и биопрепарат Битоксибациллин (БТБ) испытывали на местной популяции вредителя.

Битоксибациллин, П (ООО ПО «Сиббиофарм»), действующее вещество – *Bacillus thuringiensis*, var. *thuringiensis*, штамм 98 (БА-1500 ЕА/мг, титр не менее 20 млрд спор/г).

#### **Методика лабораторных экспериментов по оценке выживаемости и биотического потенциала подизуса при использовании различных видов насекомых-жертв.**

Личинок подизуса второго возраста помещали в пластиковые контейнеры объемом 250 мл, содержащие вату, смоченную водой для поддержания водного баланса клопов, и кормовых насекомых в соответствии с вариантами опыта. Три раза в неделю учитывали живых особей и отмечали возраст личинок, а также проводили смену корма и поилок. Контейнеры с опытными насекомыми содержали при постоянных условиях – температуре +25 °С и 16-ти часовом световом периоде в термостатированном помещении. Повторность опыта 4-х кратная, в повторности – по 10 личинок. Опыты проводили в двукратном повторении с

последующим усреднением полученных значений. Варианты опыта включали следующие виды кормовых насекомых: гусениц большой вошинной огневки (*G. mellonella*) и капустной моли (*P. xylostella*), личинок большого мучного хрущака (*T. molitor*), бобовую тлю (*M. viciae*) и смешанный корм. В варианте со смешанным кормом подизусу давали все виды испытываемых насекомых в избытке, чередуя их при каждом кормлении. Несъеденных насекомых удаляли из контейнера и заменяли их на следующий вид кормового насекомого. Таким образом, создавались условия, при которых у хищных клопов не было возможности выбора наиболее предпочитаемого вида жертвы, и в рацион энтомофага попадали все виды кормовых насекомых.

После линьки на имаго, их разделяли по полу и взвешивали массу тела на электронных весах Ohaus с погрешностью 0.1 мг.

На следующем этапе опыта взрослых особей содержали в пластиковых контейнерах из расчета 3 самки и 3 самца на повторность и кормили теми же видами насекомых, которыми питались личинки подизуса. Учет живых особей, подкормку, сбор и подсчет яиц проводили 3 раза в неделю. Плодовитость определяли с пересчетом на 1 самку. Повторность этого этапа опыта – 3-х кратная.

Вторую серию опытов (в 2-х кратном повторении) проводили по той же методике, но с использованием в качестве жертв для энтомофага личинок колорадского жука (*L. decemlineata*), зеленой падальной мухи (*Lucilia caesar* L.) в сравнении с эталоном (*G. mellonella*).

Прожорливость подизуса изучали по следующей методике. В чашку Петри помещали кормовое растение для колорадского жука – лист картофеля и помещали по 10 личинок (L<sub>2</sub> или L<sub>3</sub>) вредителя из расчета на 1 повторность. Затем подсаживали хищного клопа в разных фазах развития. Для оценки прожорливости имаго в чашку подсаживали 1 самку, для изучения прожорливости личинок энтомофага – подсаживали по 2 особи одинакового возраста. Через 1 сутки учитывали количество оставшихся в живых особей колорадского жука и проводили пересчет съеденных особей вредителя из расчета на 1 особь хищника.

**Полевые эксперименты** проводили на опытном поле УПХ «Сад Мичуринцев» НГАУ, территориально расположенном в лесостепи Приобья (Новосибирская область, Западная Сибирь – 55.029534, 82.985946), в 2018–2020 гг. Климат зоны характеризуется как континентальный, с относительно коротким и умеренно-теплым летом и продолжительно-холодной зимой. Длительность безморозного

периода составляет в среднем 120 дней. Гидротермический коэффициент с температурами воздуха выше +10°C равен 1.0.

Погодно-климатические условия вегетационных периодов 2018–2020 гг. по данным ГМС «Огурцово» Новосибирской области отличались от нормы, как по температурному режиму, так и по количеству осадков. Два сезона (2019 и 2020 гг.) были отмечены как теплые, превышение среднесезонной температуры в отдельные месяцы достигало 4.6–4.8°C. При этом отклонение от нормы наблюдалось преимущественно в весенние (апрель, май) и осенние (сентябрь) месяцы, что проявлялось в удлинении периода вегетации. Вегетационный сезон 2018 года характеризовался холодной затяжной весной, в связи с чем, сроки посадки картофеля были существенно сдвинуты. В целом 2018–2020 гг. отличались избыточным увлажнением, за исключением отдельных месяцев, когда количество осадков было ниже среднесезонных значений.

Полевые опыты в садках по изучению эффективности хищного клопа подизуса против колорадского жука проводили на посадках картофеля сорта Юна. На модельные растения с находящимися на них личинками колорадского жука выпускали личинок 3-го возраста энтомофага в количестве 10 шт. (соотношение хищник-жертва составляло 1:3.0–3.5). Модельные растения закрывали садками из

прочной прозрачной ткани (мельничный газ) для исключения миграции насекомых и точного учета численности вредителя и энтомофага (Půža et al., 2021). Биологическую эффективность подизуса сравнивали с обработкой биопрепаратом Битоксикациллин в 0.7%-й концентрации (эталон) и контрольным вариантом (без защитных мероприятий). В варианте с совместным применением биопрепарата и подизуса первоначально на растения выпускали хищника, а затем проводили опрыскивание. Повторность опыта 5-ти кратная. Размещение повторностей на опытном участке рендомизированное.

В полевом эксперименте 2020 г. на опытном участке выпуск энтомофага проводили на растения картофеля (без укрытия) на площади 0.1 га исходя из соотношения хищник-жертва – 1:5–6.5, что в пересчете на 1 га составило 216–280 тыс. особей.

Биологическую эффективность (БЭ, %) определяли по формуле Аббота.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили, используя пакет программ Microsoft Excel с вычислением средних значений и стандартных отклонений ( $\pm SD$ ). Достоверность различий средних значений между вариантами опытов оценивали методом дисперсионного анализа (Snedecor), при  $p \leq 0.05$ .

### Результаты

Результаты лабораторных экспериментов свидетельствуют том, что качество корма, которым питается подизус, является одним из основных факторов, оказывающим существенное влияние не только на выживаемость личинок и выход имаго (табл. 1), но и на следующее поколение энтомофага (табл. 2).

Выживаемость личинок младших возрастов хищного клопа была высокой (92.5–100%) и существенно не различалась при использовании разных видов жертв, за исключением варианта с виковой тлей, где до 3-го возраста доживало лишь 17.5% особей. В дальнейшем питание различными видами насекомых отразилось в показателях по выходу имаго и массе перелинявших особей самок и

**Таблица 1.** Выживаемость личинок хищного клопа *Podisus maculiventris* в зависимости от вида жертвы

Показатель	Виды жертв				
	личинки <i>Galleria melonella</i>	личинки <i>Plutella xylostella</i>	личинки <i>Tenebrio molitor</i>	<i>Megaura viciae</i>	смешанный корм*
Длительность развития личинок со II возраста до имаго, сутки	13÷19	21÷24	12÷19	–	15÷19
Выживаемость личинок II-III возрастов, %	100	100	92.5	17.5	95.0
Выход имаго, %	80.0	7.5	55.0	0	78.3
Масса самок, мг, среднее±ст.ош.	64.4±3.1	37.7±8.8	59.2±2.6	–	74.8±7.4
Масса самцов, мг, среднее±ст.ош.	51.6±1.7	32.6**	48.1±3.0	–	56.0±2.6

\* – смена вида жертвы при каждом кормлении

\*\* – в варианте был получен только 1 самец

**Table 1.** Survival of larvae of predatory bug *Podisus maculiventris* depending on the species of prey

Index	Prey species				
	Larvae of <i>Galleria melonella</i>	Larvae of <i>Plutella xylostella</i>	Larvae of <i>Tenebrio molitor</i>	<i>Megaura viciae</i>	Mixed feed*
Duration of development from second instar larvae to adult, days	13÷19	21÷24	12÷19	–	15÷19
Survival of II-III instars, %	100	100	92.5	17.5	95.0
Adult outcome, %	80.0	7.5	55.0	0	78.3
Weight of females, mg, mean±SE	64.4±3.1	37.7±8.8	59.2±2.6	–	74.8±7.4
Weight of males, mg, mean±SE	51.6±1.7	32.6**	48.1±3.0	–	56.0±2.6

\* – change of prey species at each feeding

\*\* – only one male specimen molted to adult

самцов. При этом количество вышедших имаго нового поколения в варианте, где личинки питались смешанным кормом, практически не отличалось от эталонного варианта (с использованием галлерии), а масса самцов и самок была наибольшей. Поскольку в варианте с использованием в качестве корма для подизуса гусениц капустной моли на имаго смогли перелинять только 3 особи, которые в дальнейшем погибли, а в варианте с виковой тлей до имаго не дожило ни одной особи, то эти варианты были исключены из дальнейших исследований.

Питание хищника на личиночной стадии смешанным кормом приводило не только к увеличению массы тела имаго, но и повышению плодовитости самок следующего поколения (табл. 2). После отрождения имаго их продолжали кормить тем же кормом, которым питались личинки. Максимальный период жизни имаго наблюдался в варианте со смешанным кормом, где и самки и самцы смогли прожить до 75 суток. Самый короткий период жизни имаго наблюдался у самцов, питавшихся галлерией (54 суток) и у самок, питавшихся личинками хрущака (64 суток).

**Таблица 2.** Длительность жизни имаго и плодовитость самок *Podisus maculiventris* нового поколения в зависимости от вида жертвы

Вариант	Максимальный период жизни имаго, сутки		Плодовитость за весь период жизни, яиц/самку, среднее±ст.ош.	Относительная плодовитость, % от общей плодовитости	
	самок	самцов		Первый месяц	Второй месяц
Гусеницы <i>Galleria melonella</i>	71	54	504.7±39.4	61.5	38.5
Личинки <i>Tenebrio molitor</i>	64	71	345.0±63.5	64.3	35.7
Смешанный корм	75	75	539.6±63.9	51.2	48.8
НСП <sub>05</sub>	-	-	203.49	-	-

**Table 2.** Adult life span and fertility of *Podisus maculiventris* females of the new generation depending on the species of prey

Вариант	Maximal longevity, days		Total fertility, eggs/female, mean±SE	Relative fertility, % of total fertility	
	females	males		First month	Second month
Larvae of <i>Galleria melonella</i>	71	54	504.7±39.4	61.5	38.5
Larvae of <i>Tenebrio molitor</i>	64	71	345.0±63.5	64.3	35.7
Mixed feed	75	75	539.6±63.9	51.2	48.8
LSD <sub>05</sub>	-	-	203.49	-	-

Откладка яиц самками продолжалась на протяжении всего периода их жизни (около 2-х месяцев). При этом в вариантах, где личинок и имаго кормили гусеницами галлерии и личинками большого мучного хрущака, больше яиц самки откладывали в первую половину жизни (первый месяц), что составляло 61.5% (личинки галлерии) и 64.3% (личинки хрущака). В варианте, где подизус питался смешанным кормом, распределение яиц по периоду жизни было более равномерным – в первый месяц самками было

отложено 51.2% яиц, во второй месяц – 48.8%, а плодовитость была наибольшей.

Существенное влияние вида жертвы на выживаемость и другие показатели жизнедеятельности хищного клопа подизуса было доказано и в другой серии экспериментов, в которых в качестве корма для хищника использовали гусениц галлерии (эталонный вариант), личинок колорадского жука и зеленой падальной мухи (табл. 3).

**Таблица 3.** Влияние вида жертвы на жизнеспособность и биотический потенциал хищного клопа *Podisus maculiventris* в лабораторных условиях

Показатель	Виды жертв		
	<i>Galleria melonella</i>	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>Lucilia caesar</i>
Длительность развития личинок со II возраста до имаго, сутки	10÷14	14÷20	12÷20
Выход имаго, % ± ст.ош.	80.0±8.7	58.0±4.2	28.0±8.9
Масса самок, мг, среднее ± ст.ош.	72.2±2.1	63.2±2.3	71.0±4.9
Масса самцов, среднее ± ст.ош.	55.4±1.6	45.6±2.9	47.8±2.1
Плодовитость за первый месяц жизни имаго, яиц на 1 самку, среднее ± ст.ош.	441.3±57.0	450.8±54.3	154.0±65.9*

\* – не все самки в варианте доживали до одного месяца

**Table 3.** The impact of the prey species on the viability and biotic potential of the predatory bug *Podisus maculiventris* under laboratory conditions

Variant	Prey species		
	<i>Galleria melonella</i>	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	<i>Lucilia caesar</i>
Duration of development from second instar larvae to adult, days	10÷14	14÷20	12÷20
Adult outcome, % ± SE	80.0±8.7	58.0±4.2	28.0±8.9
Weight of females, mg, mean ± SE	72.2±2.1	63.2±2.3	71.0±4.9
Weight of females, mg, mean ± SE	55.4±1.6	45.6±2.9	47.8±2.1
Female fertility during the first month of adulthood, eggs/female, mean ± SE	441.3±57.0	450.8±54.3	154.0±65.9*

\* – not all females survived for one month

Несмотря на то, что подизус рекомендован для регуляции численности колорадского жука, питание личинок энтомофага личинками этого вредителя приводило к удлинению периода преимагинальной фазы, гибели значительной части особей (до 42%) и снижению массы тела самцов и самок следующего поколения по сравнению с эталонным вариантом. Однако выкармливание подизуса колорадским жуком не отразилось на плодовитости самок, которая в этом варианте была достаточно высокой и составляла  $450.8 \pm 54.3$  яиц. Наименее пригодным кормом

для подизуса оказались личинки зеленой падальной мухи, питание которыми вызывало существенную гибель личинок и взрослых особей хищного клопа и снижение плодовитости, несмотря на то, что масса тела самок в этом варианте была на уровне эталона.

Результаты лабораторного опыта по изучению эффективности хищного клопа подизуса в отношении колорадского жука показали, что прожорливость хищника зависит от фазы его развития, а также от возраста личинок энтомофага и жертвы (табл. 4).

**Таблица 4.** Прожорливость хищного клопа *Podisus maculiventris* при питании личинками колорадского жука

Фаза развития хищного клопа	Возраст личинок колорадского жука	Количество личинок колорадского жука, съеденных подизусом за 1 сутки, среднее $\pm$ SE
Личинки второго возраста	III	1.8 $\pm$ 0.5
Личинки третьего возраста	III	2.8 $\pm$ 0.5
Личинки четвертого возраста	III	2.9 $\pm$ 0.5
Имаго	II	8.4 $\pm$ 0.7
Имаго	III	6.0 $\pm$ 1.1

**Table 4.** The voracity of the predatory bug *Podisus maculiventris* feeding with Colorado potato beetle

Predatory bug developmental stage	Larval instar of Colorado potato beetle	Number of larvae consumed per day, mean $\pm$ SE
Second instar	III	1.8 $\pm$ 0.5
Third instar	III	2.8 $\pm$ 0.5
Fourth instar	III	2.9 $\pm$ 0.5
Adult	II	8.4 $\pm$ 0.7
Adult	III	6.0 $\pm$ 1.1

С увеличением возраста личинок хищного клопа возрастало и количество съеденных ими за сутки особей вредителя, однако большее количество жертв потребляли взрослые особи – в среднем от 6.0 до 8.4 в зависимости от возраста личинок колорадского жука.

Кроме перечисленных выше видов насекомых-жертв личинки и взрослые особи подизуса в лабораторных условиях активно питались личинками калинового листоеда, капустной совки, лугового мотылька, боярышницы, особи которых были собраны в природных условиях сибирского региона.

В условиях юга европейской части России отработана технология применения и доказана эффективность хищного клопа подизуса для защиты картофеля от колорадского жука (Саулич, Мусолин, 2011; Нефедова, 2018; Нефедова, Агасьева, 2019). В условиях Сибири подобные исследования были проведены впервые. Трехлетние полевые испытания энтомофага и биопрепарата Битоксибациллин были выполнены на сорте картофеля Юна и выявили достаточно высокую эффективность биологических средств против основного вредителя этой культуры (табл. 5).

**Таблица 5.** Биологическая эффективность хищного клопа *Podisus maculiventris* и биопрепарата Битоксибациллин (БТВ) против колорадского жука в полевых условиях, УПХ «Сад Мичуринцев» НГАУ

Вариант	Биологическая эффективность, % на 5-е сутки			Поврежденность растений, % на 5-е сутки		
	2018	2019	2020	2018	2019	2020
Контроль	–	–	–	15.0	69.0	43.0
Выпуск подизуса	66.2	75.1	85.4	5.4	1.0	7.0
Обработка БТВ	64.6	64.4	62.0	3.0	6.4	8.0
Выпуск подизуса и обработка БТВ	87.7	97.9	98.5	1.0	0	0
НСР <sub>05</sub>		17.14		3.02	15.27	12.71

**Table 5.** Biological efficacy of the predatory bug *Podisus maculiventris* and the biological preparation Bitoksibatsillin (BTB) against the Colorado beetle under the field conditions, Novosibirsk State Agrarian University

Variant	Biological efficiency, % on day 5			Plant damage, % on day 5		
	2018	2019	2020	2018	2019	2020
Control	–	–	–	15.0	69.0	43.0
<i>Podisus</i> release	66.2	75.1	85.4	5.4	1.0	7.0
BTB treatment	64.6	64.4	62.0	3.0	6.4	8.0
<i>Podisus</i> release & BTB treatment	87.7	97.9	98.5	1.0	0	0
LSD <sub>05</sub>		17.14		3.02	15.27	12.71

Биологическая эффективность хищного клопа несколько варьировала по годам исследования от 66.2 до 85.4%, но в целом была выше этого показателя в варианте с обработкой картофеля биопрепаратом Битоксибациллин в рекомендованной норме расхода. При совместном использовании энтомофага и биопрепарата эффективность защитных мероприятий существенно увеличивалась и достигала 98.5% (2020 г.). Поврежденность растений личинками колорадского жука при использовании биологических средств значительно уменьшалась, а в варианте

с совместным использованием биопрепарата и подизуса практически отсутствовала, по сравнению с контролем, где обработку и выпуск хищного клопа не проводили.

В полевом эксперименте 2020 года при выпуске подизуса на разные сорта картофеля (Розара, Свитанок Киевский, Хозяюшка, Кемеровчанин) при первичном соотношении хищник-жертва – 1:5.0–6.5 биологическая эффективность энтомофага на 5-е сутки опыта составляла от 62.9 до 75.0% в зависимости от сорта культуры и заселенности растений вредителем.

### Обсуждение

Полученные в результате проведенных лабораторных экспериментов данные, свидетельствуют о повышении основных показателей жизнеспособности и биотического потенциала хищного клопа подизуса при кормлении их смешанным кормом, включающим несколько видов фитофагов. Вероятно, это связано с тем, что подизус является широким полифагом и в природных условиях поедает разные виды насекомых. Подобные исследования, проведенные другими экспериментаторами, привели к сходным заключениям. Так, при питании нимф *P. maculiventris* по отдельности колорадским жуком (*L. decemlineata*), личинками египетской хлопковой совки (*Spodoptera littoralis* (Boisduval) и личинками и куколками падальных мух (Diptera: Calliphoridae) не наблюдалось различий между этими вариантами, а при использовании смеси трех перечисленных видов жертв увеличивалась масса энтомофага и сокращался период развития его личиночной стадии (Pascual-Ruiz et al., 2009). Zanuncio et al. (2001) предлагают совместное использование куколок *T. molitor* и личинок *Musca domestica* в качестве жертвы для разведения *Podisus nigrispinus*. Аналогичные сведения по смешанному питанию приводят Гусев Г.В. с соавторами (1982) – при кормлении личинок подизуса двумя видами насекомых (большой вошинной огневкой и эфестией *Ephestia kuehniella* Zll.) процент выхода имаго нового поколения увеличивался до 85%.

Несмотря на полифагию жизнеспособность и биотический потенциал подизуса, как и других многоядных видов насекомых, существенно зависит от вида корма, что необходимо учитывать при разведении этого энтомофага. Неравнозначность видов жертв для подизуса доказана результатами проведенных нами исследований и согласуется данными других авторов. Так, по нашим наблюдениям использование в качестве источника питания для личинок хищного клопа гусениц капустной моли и виковой тли целесообразно только в период младших возрастов (II-III), а также как добавку при смешанном питании. В другом исследовании сделаны аналогичные выводы при изучении возможности выкармливания нимф подизуса тремя видами тлей (виковой, злаковой и персиковой), показана возможность их использования в качестве жертв для энтомофага только на ранних стадиях его развития (Козлова и др., 2019).

Разработанные способы разведения хищного клопа на личинках синей мясной мухи *Calliphora uralensis* Villeneuve (Туганова, Волкович, 1988), на большой вошинной огневке (Гусев и др., 1982) и большом мучном хрущаче (Ширинян и др., 2012) имеют как преимущества, так и недостатки. Так, синяя мясная муха является разносчиком

дизентерийных микробов, яиц паразитических гельминтов и других кишечных инфекций и обладает низкой питательной ценностью для подизуса. Использование большой вошинной огневки увеличивает экономические затраты производства клопа подизуса, так как для разведения этого насекомого используются дорогостоящие компоненты корма (мед, воск), что отмечается рядом авторов (Гусев и др., 1982; Козлова и др., 2019). Культивирование подизуса на личинках большого мучного хрущача целесообразно для массового производства этого энтомофага. По данным М. Nefedova (2021), из четырех испытанных видов-жертв (*E. kuehniella*, *G. melonella*, *Zophobas morio* Fabr. и *T. molitor*) наибольшие показатели выживаемости и массы самок были получены в варианте, где личинки подизуса выкармливались куколками большого мучного хрущача. Более того, имеет значение не только вид жертвы, но и стадия его развития и возрастной состав личинок кормового насекомого, что было также выявлено на примере *T. molitor* (Gyawaly, 2011; Morales-Ramos et al., 2016; Nefedova, 2021). Стоит отметить, что сведения по массе имаго и плодовитости самок подизуса, приводимые в как в отечественных, так и зарубежных публикациях, варьируют в достаточно широких пределах. Причинами столь широкой дивергенции могут быть как условия культивирования, в том числе влияние кормового субстрата, так и происхождение культуры энтомофага, либо длительное воспроизводство лабораторной линии при определенных условиях. Также мало изучено влияние микрофлоры кишечника хищного клопа, изменение которой может отражаться на жизненном цикле и биотическом потенциале энтомофага (Ahsaei et al., 2020). Следует добавить, что некоторые исследователи указывают на отсутствие корреляции между массой тела самок подизуса и его плодовитостью (De Clereq et al., 1998; Zanuncio et al., 2001).

В целом, на основании результатов серии лабораторных экспериментов показано, что для поддержания высоких показателей жизнеспособности и плодовитости маточной культуры *P. maculiventris* целесообразно его содержание на смешанном корме, включающем разные виды насекомых-жертв, что возможно в биолaborаториях, где нарабатывается комплекс видов энтомофагов и их кормовых насекомых.

Биологическая эффективность применения хищного клопа подизуса против колорадского жука на уровне 66.2–85.4%, полученная в полевых экспериментах соответственно, позволяет сделать выводы о принципиальной возможности применения энтомофага в условиях Сибирского региона. Использование *P. maculiventris* совместно с биопрепаратом Битоксибациллин приводило к

увеличению эффективности защитных мероприятий до 98.5% и практически полному отсутствию повреждений защищаемой культуры. Исследования в этом направлении продолжаются.

Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда, грант № 23-26-00073.

### Библиографический список (References)

- Агасьева ИС, Исмаилов ВЯ, Федоренко ЕВ, Нефедова МВ (2017а) Результаты апробации энтомоакарифагов в системах биологической защиты органических садов. Биологическая защита растений: успехи, проблемы, перспективы. *Информационный бюллетень ВПРС МОББ* 52:24–27
- Агасьева ИС, Нефедова МВ, Федоренко ЕВ, Умарова АО (2017б) Биологические особенности хищных клопов пентатомид и новые методы их культивирования на ИПС. *Биологические науки* 7(61):6–8
- Андреева ИВ, Цветкова ВП, Зенкова АА (2016) Перспективы использования энтомоакарифагов для биологического контроля фитофагов в условиях Сибирского региона. Сборник трудов научно-практической конференции «Актуальные проблемы агропромышленного комплекса». Новосибирск: НГАУ. 3–6
- Андреева ИВ, Шаталова ЕИ, Улянова ЕГ (2020) Способ разведения капустной моли *Plutella xylostella* L. Патент на изобретение RU 2735251
- Асякин БП, Красавина ЛП, Козлова ЕГ, Белякова НА и др. (2001) Технологический регламент на производство галлицы афидимизы. СПб: ВИЗР. 12 с.
- Ахатов АК (2016) Практическое пособие по идентификации клещей и насекомых в овощных теплицах. М: Товарищество научных изданий КМК. 94 с.
- Березин МВ, Компанцева ТВ, Ткачева ЕЮ, Тюрина ЕС (2008) Методические рекомендации по разведению кормовых насекомых. М: Московский зоопарк. 48 с.
- Бондаренко НВ, Воронова ОВ (1989) Галлица афидимиза: методика массового разведения и применения против тлей на тепличных овощных культурах. Биологический метод борьбы с вредителями овощных культур. Сборник научных статей. М.: Агропромиздат. 8–19
- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации за 2022 г. <https://www.agroxxi.ru/goshandbook>
- Гусев ГВ, Заяц ЮВ, Перепелица ЛВ, Шметцер НВ (1982) Методические указания по разведению и хранению хищного клопа подизуса. Л.: ВИЗР. 18 с.
- Коваленков ВГ (2015) Антропогенные факторы и фитосанитарная дестабилизация. *Защита и карантин растений* (9):3–8
- Козлова ЕГ, Касем АЭС, Анисимов АИ (2019) Использование трех видов тлей при разведении хищного клопа подизуса. *Вестник защиты растений* (3)(101):50–57. [https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3\(101\)-50-57](https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3(101)-50-57)
- Комарова ОП, Козенко КЮ, Земляничина СВ (2021) Биологическая защита растений – одно из основных направлений снижения пестицидной нагрузки на агроценозы. *Международный научно-исследовательский журнал* 9(111):98–102. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.9.111.016>
- Коновалова ТВ (2009) Лабораторное содержание и разведение большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. *Российский ветеринарный журнал* (4):46–48
- Малюга АА, Омельченко НА, Похлебин ЮН (2011) Колорадский жук: по пути на восток. *Защита и карантин растений* 8:20–23.
- Нефедова МВ (2018) Разработка методов разведения и применения хищных клопов *Perillus bioculatus* Fabr. и *Podisus maculiventris* Say. для биологического контроля колорадского жука с учетом эффективности природных популяций энтомофагов. *Автореф. дис. ... к.б.н.* М. 23 с.
- Нефедова МС, Агасьева ИС (2019) Защита картофеля от колорадского жука биологическим методом. Материалы X всероссийской конференции молодых ученых и специалистов. ВНИИМК.123–127
- Саулич АХ, Мусолин ДЛ (2011) Биология и экология хищного клопа *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera, Pentatomidae) и возможности его использования против колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae). Учебно-методическое пособие к курсу «Сезонные циклы насекомых» для студентов магистратуры на кафедре энтомологии. СПб. 84 с.
- Туганова ИА, Волкович ТА (1989) Способ разведения хищного клопа подизуса. Патент на изобретение SU 1531939
- Цветкова ВП, Гербер ОН, Штерншис МВ (2010) Препараты против сибирской популяции колорадского жука. *Защита и карантин растений* 1:34–35.
- Ширинян ЖА, Агасьева ИС, Исмаилов ВЯ, Федоренко ЕВ, Нефедова МВ (2012) Технологический регламент на производство *Podisus maculiventris*. Краснодар. 18 с.
- Штерншис МВ, Томилова ОГ, Андреева ИВ (2006) Биотехнология в защите растений. Учебное пособие. Новосибирск: НГАУ. 200 с.
- Ahsaei SM, Hosseiniaveh V, Talei-Hassanloui R, Zamani M (2020) contribution of bacterial gut symbionts to digestion and development in *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Proc Natl Acad Sci Ind Sect B Biol Sci* 90:959–967. <https://doi.org/10.1007/s40011-020-01165-3>
- De Clereq P, Merlevede F, Tirry, L (1998) Unnatural prey and artificial diets for rearing *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae) *Bio Control. Biol Control.* 12(2):137–142.
- De Clercq P, Wyckhuys K, Oliveira H, Klapwijk J (2002) Predation by *Podisus maculiventris* on different life stages of *Nezara viridula*. *Florida Entomologist* 85:197–202. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2002\)085\[0197:PBPMO D\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2002)085[0197:PBPMO D]2.0.CO;2)
- Desurmont G, Weston PA (2008) Predation by *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae) on viburnum leaf beetle, *Pyrrhalta viburni* (Paykull) (Coleoptera: Chrysomelidae), under laboratory and field conditions. *Environ Entomol* 37(5):1241–1251. <https://doi.org/10.1093/ee/37.5.1241>
- Gyawaly S (2011) Feeding Behavior of *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae): Implications for Mass Rearing and Biological Control. *Graduate Theses, Dissertations, and Problem Reports.* 4727. <https://doi.org/10.33915/etd.4727>

- Morales-Ramos JA, Rojas MG, Shelby KS, Coudron TA (2016) Nutritional Value of Pupae Versus Larvae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as Food for Rearing *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *J Econ Entomol* 109(2):564–571. <https://doi.org/10.1093/jee/tov338>
- Nefedova M (2021) Breeding the predatory bug *Podisus maculiventris* Say to protect potatoes from *Leptinotarsa decemlineata* Say. *E3S Web Conf* 285:03012. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202128503012>
- Pascual-Ruiz S, Carrillo L, Alvarez-Alfageme F, Ruiz M et al (2009) The effects of different prey regimes on the proteolytic digestion of nymphs of the spined soldier bug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bull Entomol Res* 99(5):487–491. <https://doi.org/10.1017/S0007485308006561>
- Půža V, Nermuť J, Konopická J, Skoková Habuštová O. (2021) Efficacy of the applied natural enemies on the survival of Colorado potato beetle adults. *Insects* 12(11):1030. <https://doi.org/10.3390/insects12111030>
- Zanuncio JC, Molina-Rugama AJ, Serrao J, Pratisoli D (2001) Nymphal development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with combinations of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. *Biocontrol Sci Technol* 11(3):331–337. <https://doi.org/10.1080/09583150120055736>

### Translation of Russian References

- Agasyeva IS, Ismailov VYa, Fedorenko YeV, Nefedova MV (2017a) [Results of testing of entomoacariphagous agents in biological protection systems of organic gardens]. *Biologicheskaya zashchita rasteniy: uspekhi, problemy, perspektivy. Informatsionnyy byulleten VPRS MOBB (52)24–27.a* (In Russian)
- Agasyeva IS, Nefedova MV, Fedorenko YEV, Umarova AO (2017b) [Biological features of predatory pentatomid bugs and new methods of their cultivation on IPS]. *Biologicheskaya nauka* 7(61): 6–8 (In Russian)
- Andreeva IV, Tsvetkova VP, Zenkova AA (2016) [Prospects for the use of entomoacariphages for biological control of phytophages in the conditions of the Siberian region]. *Proceedings of the scientific and practical conference “Actual problems of the agro-industrial complex”*. Novosibirsk: NGAU. 3–6 (In Russian)
- Andreeva IV, Shatalova EI, Ulyanova EG (2020) Method of breeding diamondback moth *Plutella xylostella* L. Patent RU 2735251. (In Russian)
- Asyakin BP, Krasavina LP, Kozlova EG, Belyakova NA and al (2001) [Technological regulations for the production of gallica afidimiza]. St. Petersburg. VIZR. 12 p. (In Russian)
- Akhatov AK (2016) [Practical guide to the identification of mites and insects in vegetable greenhouses]. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK. 94 p. (In Russian)
- Berezin MV, Kompantseva TV, Tkacheva EYu, Tyurina ES (2008) [Methodological recommendations for breeding forage insects]. Moscow: Moskovskiy zoopark. 48 p. (In Russian)
- Bondarenko NV, Voronova OV (1989) [Gallica aphidimysis: a method of mass breeding and use against aphids in greenhouse vegetable crops]. *Biologicheskii metod borby s vreditelyami ovoshchnykh kultur. Sbornik nauchnykh statey*. Moscow: Agropromizdat. 8–19 (In Russian)
- State catalog of pesticides and agrochemicals approved for use in the territory of the Russian Federation for 2022. <https://www.agroxxi.ru/goshandbook> (In Russian)
- Gusev GV, Zayats YuV, Perepelitsa LV, Shmettser NV (1982) [Guidelines for the breeding and storage of a predatory bug *Podisus*]. L.: VIZR. 18 s. (In Russian)
- Kovalenkov VG (2015) [Anthropogenic factors and phytosanitary destabilization]. *Zashchita i karantin rasteniy* 9:3–8 (In Russian)
- Kozlova YEG, Kasem AES, Anisimov AI (2019) [The use of three species of aphids in breeding predatory bug *Podisus*]. *Vestnik zashchity rasteniy* 3(101):50–57 [https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3\(101\)-50-57](https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3(101)-50-57) (In Russian)
- Komarova OP, Kozenko KYu, Zemlyanitsyna SV (2021) [Biological protection of plants is one of the main directions of reducing the pesticide load on agrocenoses]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* 9(111):98–102. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.9.111.016> (In Russian)
- Konovalova TV (2009) [Laboratory maintenance and breeding of the greater wax moth *Galleria mellonella* L.]. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal* (4):46–48 (In Russian)
- Malyuga AA, Omelchenko NA, Pohlebin YuN (2011) Colorado Beetle: on the way to the east. *Zashchita i karantin rasteniy* 8:20–23. (In Russian)
- Nefedova MV (2017) [Development of methods of breeding and application of predatory bugs *Perillus bioculatus* Fabr. and *Podisus maculiventris* Say. for biological control of the Colorado potato beetle, taking into account the effectiveness of natural populations of entomophages]. *Abstr. PhD Thesis*. Moscow. 23 p. (In Russian)
- Nefedova MS, Agasyeva IS (2019) [Protection of potatoes from the Colorado potato beetle by biological method]. *Proc. X All-Russ. Conf. VNIIMK*. 123–127 (In Russian)
- Saulich AKH, Musolin DL (2011) [Biology and ecology of the predatory bug *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera, Pentatomidae) and the possibility of its use against the Colorado beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae)]. *Educational and methodical manual for the course “Seasonal cycles of insects” for master’s students at the Department of Entomology*. St. Petersburg. 84 p. (In Russian)
- Tuganova IA, Volkovich TA (1989) [Method of breeding predatory bug *Podisus*]. Patent SU 1531939 (In Russian)
- Tsvetkova VP, Gerber ON, Shternshis MV (2010) [Pesticides against the Siberian population of the Colorado potato beetle]. *Zashchita i karantin rasteniy* 1:34–35. (In Russian)
- Shirinyan ZHA, Agasyeva IS, Ismailov VYA, Fedorenko EV, Nefedova MV (2012) [Technological regulations for the production of *Podisus maculiventris*]. Krasnodar. 18 p. (In Russian)
- Shternshis MV, Tomilova OG, Andreeva IV (2006) [Biotechnology in plant protection]. *Study guide*. Novosibirsk: NGAU. 200 p. (In Russian)



PRACTICAL EXPERIENCE OF BREEDING AND USE OF PREDATORY BUG  
*PODISUS MACULIVENTRIS* IN WESTERN SIBERIA

I.V. Andreeva<sup>1,2\*</sup>, V.P. Tsvetkova<sup>2</sup>, N.I. Agrikolyanskaya<sup>1</sup>, V.S. Maslennikova<sup>2</sup>, E.I. Shatalova<sup>1,2</sup>, A.A. Zenkova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences,  
Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia*

*\*corresponding author, e-mail: iva2008@ngs.ru*

The predatory bug *Podisus maculiventris* is a polyphagous entomophagous insect, considered as a promising agent of biological protection of potato against the Colorado potato beetle in Western Siberia. In order to reduce the economic costs of its transportation and mass production, it is advisable to improve and adapt the technology of its breeding and application to the conditions of the region. Under laboratory conditions, the effectiveness of different prey species (larvae of the greater wax moth, diamondback moth, yellow mealworm beetle and vetch aphid) to maintain high indicators of the stock culture of the predatory bug was revealed. With a mixed diet, a high survival rate of entomophagous larvae was observed, the number of adults of the next generation averaged 78 % of the initial number, the weight of females and males increased to 75 and 56 mg, respectively, and fertility reached 540 eggs per female. In laboratory conditions, the voracity of the predator varied from 1.8 to 8.4 individuals of the Colorado potato beetle, depending on the stage of development of the entomophagous agent and the age of the pest larvae. As a result of three-year field trials (2018–2020) on potatoes of the Yuna variety, the biological effectiveness of the predator against the Colorado potato beetle ranged from 66 to 85 %, and with the combined use of the predatory bug and the biological preparation Bitoksibatsillin increased to 98.5 %. In 2020, the efficiency of the entomophagous agent released at the predator-prey ratio of 1: 5.0–6.5 ranged between 63 and 75 % on different varieties of potato.

**Keywords:** Colorado potato beetle, predatory bug, entomophagous agents, laboratory culture, biotic potential, mixed feed, voracity, biological efficiency

*Submitted: 10.01.2023*

*Accepted: 10.03.2023*

## VII СЪЕЗД ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА: ИТОГИ И АКТУАЛЬНЫЕ ЗАДАЧИ

Основанное 21 октября 1992 г. Паразитологическое общество имело своей задачей содействие развитию и координации паразитологических исследований в стране. На очередном VII съезде Паразитологического общества предполагается обсудить актуальные аспекты паразитологии и подвести некоторые итоги деятельности Общества.

### Место проведения:

Петрозаводск, Карельский научный центр РАН.

### Программа работы Съезда:

Пленарная сессия

Выступления представителей региональных отделений: «Важнейшие результаты и приоритетные направления исследований».

Секционные доклады по направлениям:

1. Современные концепции общей паразитологии
2. Экологическая и эволюционная паразитология
3. Морфофункциональные аспекты паразитизма
4. Иммунный ответ при паразитарных инфекциях
5. Биологические основы медицинской и ветеринарной паразитологии

6. Паразиты водных животных, аквакультура

7. Эктопаразиты и переносчики

8. Паразиты растений

9. Паразитарные последствия глобальных изменений климата

10. Паразиты наземных членистоногих

11. Взаимоотношения “паразит-хозяин”: молекулярные и биохимические аспекты.

### Ключевые даты:

Прием материалов (тезисов) – до 14 августа 2023 г.

Перечисление оргвзноса – до 5 сентября 2023 г.

Третье информационное письмо – сентябрь 2023 г.

**Сроки проведения Съезда – с 16 по 20 октября 2023 г.**

## VII MEETING OF PARASITOLOGICAL SOCIETY: RESULTS AND ACTUAL GOALS

The Parasitological Society was founded on October 21, 1992 and aimed facilitation of development and coordination of parasitological research in Russia. At the upcoming VII Meeting it is supposed to discuss actual aspects of parasitology and summarize the results of activity of the Society.

### Location:

Petrozavodsk, Karelian Scientific Centre of RAS.

### Agenda:

Plenary session

Presentations by regional divisions

Sections:

1. Modern concepts of general parasitology
2. Ecological and evolutionary parasitology
3. Morpho-functional aspects of parasitism
4. Immune response to parasitic infections
5. Biological bases of medical and veterinary parasitology

6. Parasites of hydrobionts, aquaculture

7. Ectoparasites and vectors

8. Plant parasites

9. Parasite-related consequences of global climate changes

10. Parasites of terrestrial arthropods

11. Parasite-host interactions: molecular and biochemical aspects.

### Key dates:

Abstract submission – till 14<sup>th</sup> August 2023

Fee payment – till 5<sup>th</sup> September 2023

Third information letter – September 2023

**The Meeting dates – 16<sup>th</sup> to 20<sup>th</sup> October 2023**

Научное издание

**Индекс ПМ790**

Подписано к печати 11 мая 2023 г.

Формат 60x84/8. Объем 10 п.л. Тираж 200 экз.



## Индекс ПМ790