

## ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

УДК 632.75:632.951

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИННОВАЦИОННОГО ОЛИГОНУКЛЕОТИДНОГО  
ИНСЕКТИЦИДА КОККУС-11 В БОРЬБЕ С *COCCUS HESPERIDUM* L.

Никита Витальевич Гальчинский

ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»,  
295007, Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, 4  
E-mail: pcr.product@gmail.com

Насекомые значительно превосходят все виды живых организмов по численности видов и общей биомассе, являясь одним из наиболее заметных консументов растений на планете. Для сохранения урожая одной из основных задач в сельском хозяйстве всегда была необходимость контроля и сокращения численности насекомых-вредителей. Современное использование химических инсектицидов приводит к накоплению ксенобиотиков в природе и сокращению биоразнообразия, включая насекомых. Устойчивое развитие человеческого общества невозможно без полезных насекомых, поэтому борьба с вредителями должна быть эффективной и избирательной. В данной статье показано, что применение контактного олигонуклеотидного инсектицида КОККУС-11 в концентрации 100 нг/мкл в отношении личинок *Coccus hesperidum* L. привело к гибели  $95,59 \pm 1,63\%$  в течение 12 суток. Природные олигонуклеотидные инсектициды демонстрируют новый метод борьбы с насекомыми-вредителями, который эффективен и безопасен для окружающей среды.

**Ключевые слова:** ДНК-инсектициды; КВАДб; контактно вводимая антисмысловая ДНК; мягкая ложнощитовка; смолосемянник обыкновенный; *Coccus hesperidum* L.; *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T. Aiton

## Введение

Рост численности населения требует расширения пищевой промышленности для удовлетворения потребностей общества. В настоящее время биомасса человечества составляет примерно 0,06 гигатонн углерода. Хотя численность населения сейчас больше, чем когда-либо, она ничтожно мала по сравнению с количеством насекомых. Большинство из них — наземные членистоногие, чья биомасса достигает около 1,3 гигатонн углерода [2]. Насекомые являются основными конкурентами человека в сельском хозяйстве, от которого зависит продовольственная безопасность. Потери урожая от вредителей составляют 30% до сбора и 10% после, что приводит к значительным экономическим убыткам [14, 15, 21].

Интенсивное сельское хозяйство требует масштабного использования пестицидов, объем которых, по прогнозам, увеличится в 2,7 раза к 2050 г., когда население достигнет 9 миллиардов [23]. Однако химические пестициды вызывают генетическую устойчивость вредителей [3, 28], что требует постоянного создания новых препаратов. Для сохранения экологического баланса важно разрабатывать инсектициды, не нарушающие природное биоразнообразие. Продолжающееся использование химических инсектицидов создает риски для человечества и окружающей среды [10, 18, 20, 29], включая накопление ксенобиотиков в почве и воде [19], сокращение численности опылителей [7] и негативное воздействие на здоровье.

Перспективным решением является разработка ДНК-инсектицидов (олигонуклеотидных инсектицидов или олинцидов) на основе технологии «генетической застешки-молнии» [12, 17]. Данный метод объединяет молекулярную генетику, биоинформатику и синтез нуклеиновых кислот [17]. ДНК-инсектициды воздействуют на рРНК и/или пре-РНК вредителей с помощью антисмысловых

фрагментов генов [5, 13]. Данные инсектициды способствуют деградации зрелой рРНК и/или пре-рРНК вредителей, вызывая их гибель. Пре-рРНК и рРНК составляют 80% всех РНК в клетке [1, 27], что делает их удобной мишенью для действия препаратов на основе антисмысловых олигонуклеотидов [12] и позволяет существенно увеличить соотношение сигнал/шум до примерно  $10^5:1$  по сравнению с использованием какой-либо рандомной мРНК, которые суммарно составляют лишь 5% всех РНК. В свою очередь контактно вводимая антисмысловая ДНК-биотехнология (КВАДб) имеет ряд особенностей, которые отличают ее от всех современных классов химических инсектицидов и технологий защиты растений, развивающихся сегодня: немодифицированная антисмысловая ДНК в качестве действующего вещества, ДНК-сдерживание (ДНКс) как механизм действия, пре-рРНК и рРНК насекомых в качестве молекулярной мишени [5]. Олигонуклеотидные инсектициды основаны на методе «генетической застёжки-молнии», действующем посредством образования комплементарного дуплекса ДНК олинцид-рРНК (напоминает механизм застёжки-молнии), который «застёгивает» экспрессию целевой рРНК и приводит к гибели вредителей [16]. Олигонуклеотидные инсектициды действуют на насекомых-вредителей из подотряда грудохоботных (Полужесткокрылых) через механизм ДНКс, состоящий из 2 этапов: 1) «арест» рРНК и/или пре-рРНК и гиперкомпенсация целевой рРНК; 2) целевая рРНК и/или деградация пре-рРНК, рекрутирующая рРНКазу [5]. Если возникает резистентность к инсектицидам, можно применять различные стратегии. Как правило, новые и эффективные олинциды можно легко воссоздать, смещая целевой сайт влево или вправо от устойчивого к олинциду сайта целевой зрелой рРНК и/или пре-рРНК [5, 13]. Согласно исследованиям, контактная доставка немодифицированной антисмысловой ДНК намного эффективнее [5, 11], чем пероральная доставка немодифицированной антисмысловой ДНК из-за активных ДНКаз, присутствующих в пищеварительном тракте насекомых [9, 22].

Олигонуклеотидные инсектициды обладают низким углеродным следом, высокой безопасностью для нецелевых организмов, быстрой биоразлагаемостью в экосистемах и избеганием резистентности целевого участка. В то время как современные химические инсектициды требуют месяцев и даже лет для биодеградации бактериями и грибами, олигонуклеотидные инсектициды в значительной степени биодеградируются в течение нескольких часов в присутствии нуклеаз [5, 13]. Олинциды имеют потенциал дополнить существующий рынок инсектицидов и создать экологический прецедент для средств защиты растений, где эффективность инсектицида будет определяться его безопасностью для нецелевых организмов [11]. Преимущество использования природных олигомеров, немодифицированных антисмысловых олигонуклеотидов, по-видимому, является самым безопасным способом, поскольку клетки всех живых организмов содержат вездесущие нуклеазы, которые могут их нейтрализовать [13]. Следовательно, для олигонуклеотидных инсектицидов нет необходимости искать методы ускоренной биодеградации.

В данной работе изучается инсектицидное действие короткого антисмыслового олигонуклеотида КОККУС-11 на жизнеспособность мягкой ложнощитовки *Coccis hesperidum* L. (Hemiptera: Coccoidae). Данный вид является космополитом и полифагом [8, 25], наносящим существенный ущерб цитрусовым культурам, манго, гуаве и личи [8]. *Coccis hesperidum* способен поражать около 125 семейств растений [6]. Вспышки численности щитовок вызывают экономические потери вследствие прямого потребления питательных веществ клеток и уменьшения площади фотосинтезирующих листьев. Это негативно влияет на урожайность фруктов (например, цитрусовых) или снижает декоративную ценность растений. Повреждения растений проявляются в виде

потери сока, загрязнения поверхности листьев и плодов медвяной росой, которая способствует развитию сажистого грибка [25, 26].

Цель исследований – создание и применение олигонуклеотидного инсектицида на основе КВАДб, а также выявление его биологической эффективности в открытом грунте против популяции насекомого-вредителя – мягкой ложнощитовки (*Coccus hesperidum* L.) в арборетуме ФГБУН «НБС-ННЦ» РАН.

### Материалы и методы

Исследования по оценке биологической эффективности олигонуклеотидных инсектицидов проводились на модельных участках парковых насаждений *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T. Aiton. (Apiales: Pittosporaceae) арборетума Никитского ботанического сада, расположенного по адресу: пгт. Никита, город Ялта, Никитский спуск, 52. Насекомое-вредитель, *C. hesperidum*, было обнаружено и идентифицировано на деревьях *P. tobira*.

Объектами исследования являлись популяции насекомого-вредителя и его одноцепочечный фрагмент гена, кодирующий 28S рРНК. Одноцепочечный фрагмент гена – олионид КОККУС-11 (5'-CCATCTTTTCGG-3') разработан на основе последовательности 28S рРНК, находящийся в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>; идентификатор последовательности: MF594310.1; диапазон: 655–645). Разработанный олигонуклеотид АСТГ-11 (5'-ACTGACTGACG-3') использовался в качестве контрольной последовательности. Все олигонуклеотиды растворяли в воде Milli-Q (Millipore, Мольсайд, Франция), не содержащей нуклеаз, в концентрации 100 нг/мкл и наносили на листья *P. tobira* с помощью ручного опрыскивателя из расчета 10 мл на м<sup>2</sup>. Для сравнения была включена контрольная группа, обрабатываемая только водой. Насекомое-вредитель *C. hesperidum* в эксперименте было представлено личинками первой и второй стадий. Эксперимент проводили с трехкратной повторностью, в ходе которого обработали около 1000 личинок. Уровень смертности определяли на 2-е, 6-е, 9-е и 12-е сутки. Для расчета биологической эффективности погибших особей делили на общее число особей на листе и умножали на 100%. Подсчет насекомых осуществляли с использованием микроскопа Nikon SMZ745 (Nikon Corporation, Токио, Япония) и камеры Tourcam ustos 5100 кра для фотографирования насекомых.

Таблица 1

Результаты анализа синтезированных олигонуклеотидов методом MALDI-TOF

Олигонуклеотид	Теоретическое соотношение m/z	Практическое соотношение m/z
КОККУС-11	3283,11	3293,78
АСТГ-11	3340,61	3336,71
Коккус-Ф, ген 28S рРНК, прямой праймер	4892,34	4898,04
Коккус-Р, ген 28S рРНК, обратный праймер	4866,71	4853,29

Последовательности КОККУС-11 и контрольного олигонуклеотида АСТГ-11 были синтезированы на ДНК-синтезаторе ASM-800ЕТ (BIOSSET, Новосибирск, Россия). Молекулярную массу синтезированных последовательностей ДНК определяли методом времяпролетной масс-спектрометрии с MALDI-TOF на анализаторе VastoSCREEN (Литех, Москва, Россия). Теоретические значения m/z рассчитывали с помощью программы ChemDraw 18.0 (CambridgeSoft, Кембридж, Массачусетс, США) (табл. 1).

Для оценки биологической эффективности действия олигонуклеотидного инсектицида в качестве стандарта был использован химический неоникотиноидный инсектицид Актара® (0,8 г/л); из расчета 10 мл на м<sup>2</sup>.

Личинок *C. hesperidum* гомогенизировали в пробирках объемом 1,5 мл с помощью пестика и выделяли РНК с помощью набора ExtractRNA (Евроген, Москва, Россия) согласно протоколу производителя. Были подготовлены три независимые биологические повторности, каждая из которых включала по 10 личинок на группу обработки (Контроль, АСТГ-11, КОККУС-11 и Тиаметоксам). Концентрацию и качество РНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop (Thermo Scientific, Уолтем, штат Массачусетс, США) и горизонтального гель-электрофореза. Электрофорез проводили в 1,5%-ом агарозном геле в ТВЕ-буфере (Трис-борат-ЭДТА) (10 В/см) в течение 30 мин, нанося в лунку по 5 мкл РНК. Для обратной транскрипции РНК *C. hesperidum* (50 нг/мкл) отжигали с праймером Коккус-R (табл. 2) с использованием набора MMLV Reverse Transcriptase (Евроген, Москва, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Для реакции ПЦР в реальном времени использовали 2 мкл кДНК с прямым и обратным праймерами (табл. 2) и смесью FastStart SYBR Green MasterMix (Roche, Базель, Швейцария). Условия ПЦР были следующими: 10 мин начальной денатурации при 95°C; 30 циклов по 10 с при 95°C, 15 с при 62°C и 14 с при 72°C. ПЦР проводили трижды. Анализ кривой плавления подтвердил специфичность амплификации.

Таблица 2

Последовательности праймеров, используемые для ПЦР-амплификации в реальном времени

Ген	Праймер	Последовательность праймеров (5' -3')	Ампликон	ID последовательность в GenBank
28S рРНК	Коккус-F	5'-ACCGTCGACGAAGTGG-3'	121 п.н.	MF594310.1
	Коккус-R	5'-ACGTCAGAATCGCTGC-3'		

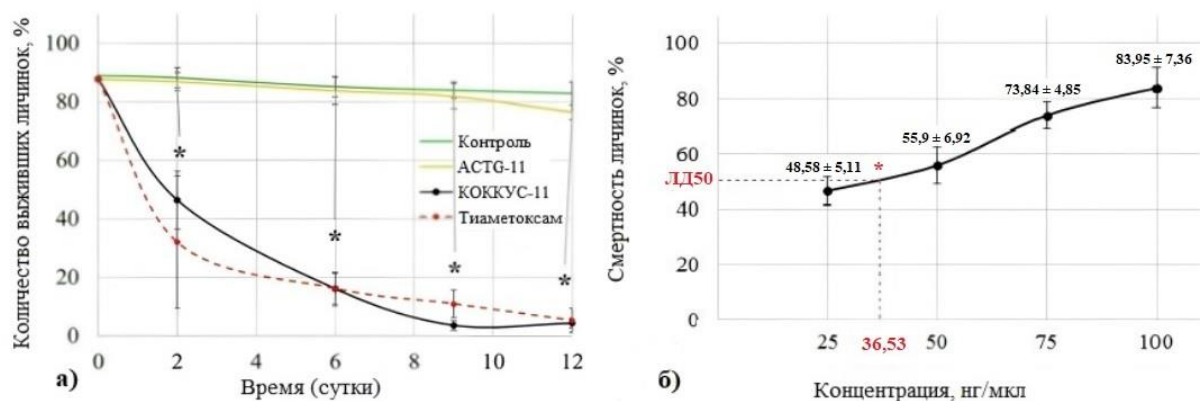
Для анализа и обработки данных, полученных в ходе исследований, применялся t-критерия Стьюдента. Все расчеты выполнялись с помощью программы Prism 9 (GraphPad Software Inc., Бостон, Массачусетс, США).

### Результаты и обсуждение

В данном исследовании контактный олигонуклеотидный инсектицид КОККУС-11 (5'-ССА-ТСТ-ТТС-ГГ-3') в концентрации 100 нг/мкл продемонстрировал высокую биологическую эффективность против личинок *C. hesperidum* уже на вторые сутки, вызывая значительную смертность (53,53%±9,99%;  $p < 0,01$ ) (рис. 1). Аналогичные результаты были получены на 2-е сутки с использованием неоникотиноидного инсектицида тиаметоксама в концентрации 0,8 г/л (68,94±22,63%;  $p < 0,01$ ) (рис. 1, а).

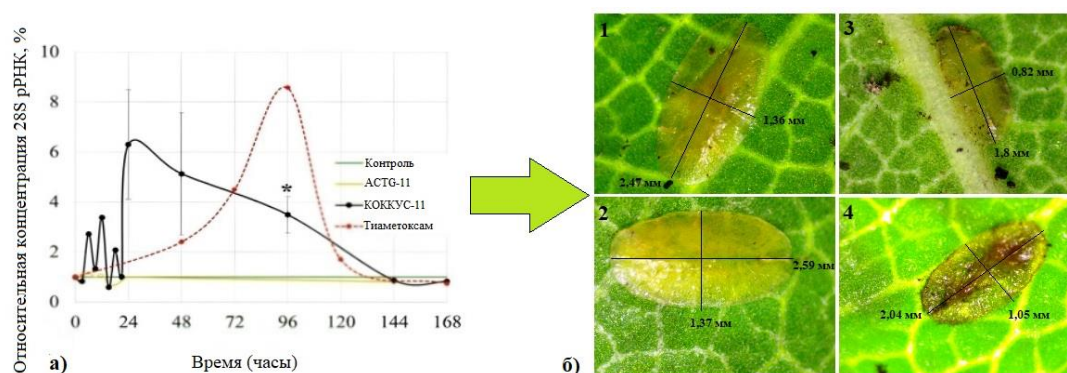
В ходе эксперимента смертность в группе, обработанной инсектицидом КОККУС-11, постепенно увеличивалась до 9-х суток. К 12-м суткам она достигла 95,59±1,63% ( $p < 0,01$ ). Аналогичные результаты были получены для тиаметоксама: смертность составила 94,71±4,11% ( $p < 0,01$ ), что подтверждает сопоставимую эффективность обоих препаратов. Контрольный олигонуклеотид АСТГ-11 не продемонстрировал значительного инсектицидного эффекта. Уровень смертности в данной группе составил 23,53±2,51% ( $p = 0,14$ ) на 12-е сутки (рис. 1, а). В контрольной группе, обработанной водой, смертность оставалась на уровне 10-15% на протяжении всего эксперимента. Также была построена кривая доза-эффект и установлено, что

ЛД<sub>50</sub> для личинок *C. hesperidum* составила 36,53 нг/мкл (рис. 1, б). Для оценки возможного негативного воздействия ДНК-олигонуклеотида на растения был измерен рН листьев, который составил  $6,02 \pm 0,05$  в группе КОККУС-11 и  $6,08 \pm 0,01$  в группе контроля ( $p > 0,05$ ). Значимых различий не обнаружено, что подтверждает экологическую безопасность олигонуклеотидного инсектицида КОККУС-11.



**Рис. 1** Влияние одноцепочечного олигонуклеотидного инсектицида КОККУС-11 на личинки *C. hesperidum*. Личинки были обработаны контактно олигонуклеотидным инсектицидом (КОККУС-11), коммерческим неоникотиноидным инсектицидом Тиаметоксамом, контрольным одноцепочечным ДНК-олигонуклеотидом АСТГ-11 (АСТГ-11) и водой (Контроль): а) динамика смертности вредителя; б) кривая зависимости доза-эффект для КОККУС-11 (6-е сутки эксперимента); ЛД<sub>50</sub> обозначена красной звездочкой. Средние значения и стандартная ошибка средних значений представлены на панелях (а, б); \* отмечено при  $p < 0,01$

Стоит отметить, что снижение экспрессии целевого гена является золотым стандартом для доказательства специфичности действия [4] для антисмысловых олигонуклеотидов.



**Рис. 2 а)** Относительная концентрация 28S рРНК в клетках мягкой ложнощитовки после обработки олигонуклеотидами. На графике представлены средние значения и стандартные ошибки средних для 3 повторностей по сравнению с контрольной группой, обработанной водой. Достоверность различий между группой "КОККУС-11" и контрольной группой (вода) обозначена \* при  $p < 0,01$  на 4-е сутки эксперимента; **б)** Морфология насекомых (на 2-е сутки) исследовалась с помощью световой микроскопии: 1 – личинка из контрольной группы с неповрежденными покровами, 2 – личинка из группы АСТГ-11 с неповрежденными покровами, 3 – личинка из группы КОККУС-11 с некрозом тканей по краям тела, 4 – личинка из группы с тиаметоксамом с заметным потемнением тела

В отличие от стандартного снижения экспрессии гена, характерного для антисмысловых олигонуклеотидов, в данном случае наблюдалось синусоидальное повышение экспрессии в течение первого часа после воздействия КОККУС-11. Затем уровень экспрессии постепенно снижался. Максимальное увеличение экспрессии было зафиксировано через 24 часа и составило более 6 раз по сравнению с контрольной группой ( $6,31 \pm 2,44$ ,  $p < 0,01$ ; рис. 2, а).

Значительная разница в экспрессии 28S рРНК по сравнению с контрольной группой наблюдалась на 4-е сутки ( $3,49 \pm 0,72$ ,  $p < 0,01$ ; рис. 2, а), что соответствует периоду высокой смертности насекомых от олигонуклеотидного инсектицида. Реакция клеток может быть объяснена сверхкомпенсацией подавления экспрессии гена, так как 28S рРНК и другие рРНК играют ключевую роль в биогенезе белка [24]. Олигонуклеотидный инсектицид КОККУС-11 повлиял на биогенез рибосом что связано с контролем клеточного роста и пролиферации. У насекомых в группе с КОККУС-11 наблюдалось почернение краев тела из-за гибели клеток (рис. 2, б-3), а в группе с тиаметоксамом – почернение всего тела (рис. 2, б-4). В контрольной группе и группе с контрольным олигонуклеотидом АСТГ-11 видимых изменений не было (рис. 2, б-1, б-2). Также обнаружено, что на макроуровне у группы, обработанной КОККУС-11, было легче отделить кутикулу от тела насекомого, что является следствием нарушения архитектуры кутикулы. В группе обработанной тиаметоксамом также было обнаружено значительное увеличение экспрессии 28S рРНК на 4-е сутки ( $8,57 \pm 0,36$ ,  $p < 0,01$ ).

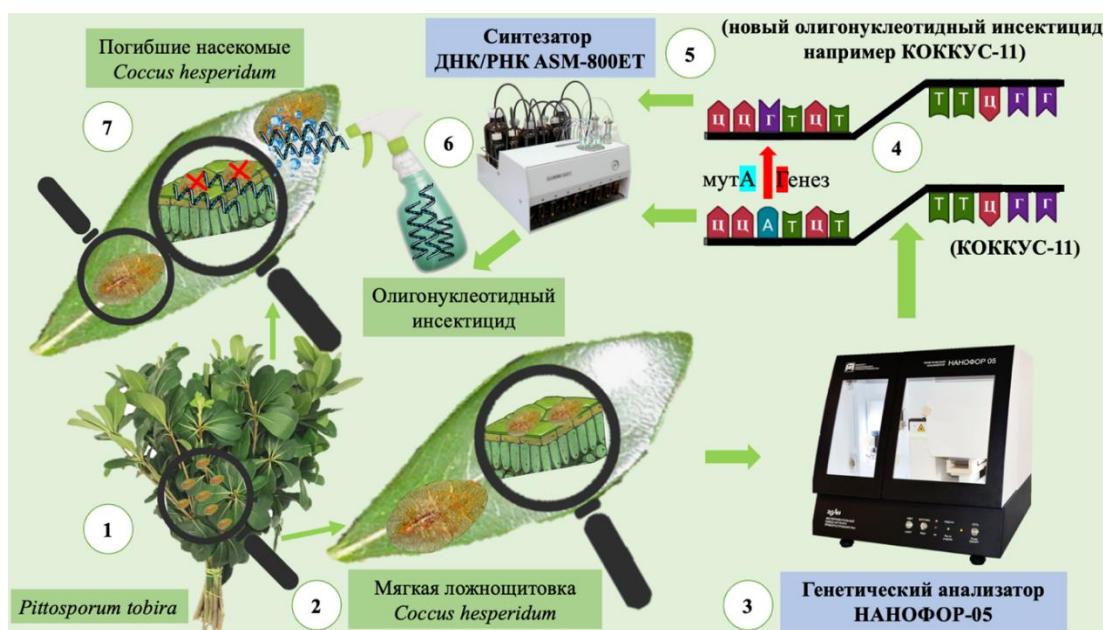


Рис. 3 Общая схема разработки и применения избирательно действующих олигонуклеотидных инсектицидов на основе КВАД-биотехнологии (контактно вводимой антисмысловой ДНК): 1, 2 – растение *P. tobira*, пораженное мягкой ложнощитовкой *C. hesperidum*; 3, 4 – генетический анализ популяции насекомых-вредителей на наличие мутаций и разработка дизайна олигонуклеотидного инсектицида; 5 – синтез олигонуклеотидных инсектицидов на автоматическом ДНК-синтезаторе; 6, 7 – обработка насекомых-вредителей разработанным олигонуклеотидным инсектицидом

Исследование демонстрирует, что с помощью представленного на рисунке 3 алгоритма можно создавать ДНК-инсектициды, эффективные против различных видов насекомых-вредителей. Ключевое преимущество таких препаратов заключается в их

высокой селективности и способности быстро и массово производится. Даже если выработалась генетическая устойчивость, эффективные препараты можно быстро воссоздать с помощью новой последовательности.

Полученные результаты демонстрируют высокую перспективность данного подхода, поскольку олигонуклеотидные инсектициды обладают таргетным действием, минимизируя воздействие на нецелевые организмы и окружающую среду. Это открывает возможности для разработки экологически безопасных средств защиты растений, особенно в условиях растущей резистентности вредителей к традиционным химическим препаратам. Дальнейшие исследования в данном направлении могут способствовать созданию новых высокоспецифичных инструментов для устойчивого сельского хозяйства.

### Выводы

В ходе исследования КОККУС-11 показал высокую эффективность в борьбе с *C. hesperidum*. Этот показатель составил  $95,59 \pm 1,63\%$  на 12 сутки. Избирательность олигонуклеотидного инсектицида была показана с использованием случайного олигонуклеотида АСТГ-11, который не оказал существенного инсектицидного эффекта на мягкую ложнощитовку. Экспериментальные результаты показывают селективность и эффективность программируемых олигонуклеотидов, предоставляющих уникальную платформу для создания хорошо адаптированных олигонуклеотидных инсектицидов на основе данных о последовательностях рДНК вредителей в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Следует отметить, что безопасным способом контроля численности вредителей является использование природных молекул, которые одновременно эффективны и не наносят вреда окружающей среде. На сегодняшний день установлено, что только нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК) способны избирательно регулировать метаболическую активность в клетках вредителей.

Короткие антисмысловые фрагменты консервативных участков генов рРНК вредителей могут быть использованы для борьбы с резистентностью и создания безопасных ДНК-инсектицидов. Данные инсектициды работают по универсальному принципу, где последовательности азотистых оснований изменяются в зависимости от генов целевого насекомого.

В то время как сегодня общественное доверие к средствам борьбы с вредителями низкое, экологически чистые олигонуклеотиды имеют шанс затмить старую традицию и создать новую, связанную с безопасностью агентов борьбы с вредителями. Мы находимся на пороге новой эры в разработке инсектицидов, когда средства борьбы можно конструировать подобно конструктору, собираемому из азотистых оснований и управляемому геномными последовательностями насекомых-вредителей. Олигонуклеотидные инсектициды начинают воплощать в жизнь 90-летнюю концепцию: создание высокоселективных, эффективных и структурно адаптируемых химических инсектицидов, способных идти в ногу с микроэволюцией популяций вредителей.

### Благодарности

«Исследование выполнено в рамках выполнения гранта Российского научного фонда № 25-16-20070, <https://rscf.ru/project/25-16-20070/>».



## Список литературы

1. *Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.* From DNA to RNA // *Mol. Biol. Cell.* – 2002. – Vol. 91. – P. 401.
2. *Bar-On Y.M., Phillips R., Milo R.* The biomass distribution on Earth // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2018. – Vol. 115. – P. 6506-6511. DOI: 10.1073/pnas.1711842115
3. *Daly H., Doyen J.T., Purcell A.H.* Introduction to Insect Biology and Diversity // Oxford University Press: New York, NY, USA. – 1998. – P. 1-9.
4. *Dias N., Stein C.A.* Antisense oligonucleotides: basic concepts and mechanisms // *Mol Cancer Ther.* – 2002. – Vol. 1. – P. 347-55.
5. *Gal'chinsky N.V., Yatskova E.V., Novikov I.A., Sharmagiy A.K., Plugatar Y.V., Oberemok V.V.* Mixed insect pest populations of Diaspididae species under control of oligonucleotide insecticides: 3'-end nucleotide matters // *Pesticide Biochem Physiol.* – 2024. – Vol. 200. – P. 105838. DOI: 10.1016/j.pestbp.2024.105838
6. *García Morales M., Denno B.D., Miller D.R., Miller G.L., Ben-Dov Y., Hardy N.B.* ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics // *Database J. Biol. Database Curation.* – 2016. – Vol. 2016. – P. bav118. DOI: 10.1093/database/bav118
7. *Hallmann C.A., Sorg M., Jongejans E., Siepel H., Hofland N., Schwan H., Stenmans W., Müller A., Sumser H., Hörrén T., et al.* More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol. 12. – P. e0185809. DOI: 10.1371/journal.pone.0185809
8. *Kapranas A., Morse J.G., Pacheco P., Forster L.D., Luck R.F.* Survey of brown soft scale *Coccus hesperidum* L. parasitoids in southern California citrus // *Biol. Control.* – 2007. – Vol. 42. – P. 288-299. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2007.05.012
9. *Keyel P.A.* DNases in health and disease // *Dev Biol.* – 2017. – Vol. 429. – P. 1-11. DOI: 10.1016/j.ydbio.2017.06.028
10. *Milner A.M., Boyd I.L.* Toward pesticidovigilance // *Science.* – Vol. 2017. – Vol. 6357. – P. 1232-1234. DOI: 10.1126/science.aan2683
11. *Oberemok V., Gal'chinsky N., Novikov I., Sharmagiy A., Yatskova E., Laikova E., Plugatar Y.* Ribosomal RNA-Specific Antisense DNA and Double-Stranded DNA Trigger rRNA Biogenesis and Insecticidal Effects on the Insect Pest *Coccus hesperidum* // *Int. J. Mol. Sci.* – 2025. – Vol. 26. – P. 7530. DOI: 10.3390/ijms26157530
12. *Oberemok V.V., Laikova K.V., Gal'chinsky N.V.* Contact unmodified antisense DNA (CUAD) biotechnology: list of pest species successfully targeted by oligonucleotide insecticides // *Front. Agron.* – 2024. – Vol. 6. – P. 1415314. DOI: 10.3389/fagro.2024.1415314
13. *Oberemok V.V., Laikova K.V., Gal'chinsky N.V., Useinov R.Z., Novikov I.A., Temirova Z.Z., Shumskykh M.N., Krasnodubets A.M., Repetskaya A.I., Dyadichev V.V., et al.* DNA insecticide developed from the *Lymantria dispar* 5.8S ribosomal RNA gene provides a novel biotechnology for plant protection // *Sci. Rep.* – 2019. – Vol. 9. – P. 6197. DOI: 10.1038/s41598-019-42688-8
14. *Oberemok V.V., Laikova K.V., Repetskaya A.I., Kenyo I.M., Gorlov M.V., Kasich I.N., Krasnodubets A.M., Gal'chinsky N.V., Fomochkina I.I., Zaitsev A.S., et al.* A Half-Century History of Applications of Antisense Oligonucleotides in Medicine, Agriculture and Forestry: We Should Continue the Journey // *Molecules.* – 2018. – Vol. 23. – P. 1302. DOI: 10.3390/molecules23061302
15. *Oberemok V.V., Laikova K.V., Zaitsev A.S., Temirova Z.Z., Gal'chinsky N.V., Nyadar P.M., Shumskykh M.N., Zubarev I.V.* The need for the application of modern chemical insecticides and environmental consequences of their use: A mini review // *J. Plant Prot. Res.* – 2017. – Vol. 57. – P. 427-432. DOI: <https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0044>



16. Oberemok V.V., Novikov I.A., Yatskova E.V., Bilyk A.I., Sharmagiya A.K., Gal'chinsky N.V. Potent and selective 'genetic zipper' method for DNA-programmable plant protection: innovative oligonucleotide insecticides against *Trioza alacris* Flor // Chem Biol Technol Agric. – 2024. – Vol. 11(144). – P. 1-8. DOI: 10.1186/s40538-024-00668-9
17. Oberemok V.V., Puzanova Y.V., Gal'chinsky N.V. The 'genetic zipper' method offers a cost-effective solution for aphid control // Front Insect Sci. – 2024. – Vol. 4. – P. 1467221. DOI: 10.3389/finsec.2024.1467221.
18. Oerke E.-C., Dehne H.-W. Safeguarding production—Losses in major crops and the role of crop protection // Crop Prot. – 2004. – Vol. 23. – P. 275-285. DOI: 10.1016/j.cropro.2003.10.001
19. Pérez-Lucas G., Vela N., Aatik A.E., Navarro S. Environmental Risk of Groundwater Pollution by Pesticide Leaching through the Soil Profile // IntechOpen. – 2019. – Vol. 3. – P. 45-68. DOI: 10.5772/intechopen.82418
20. Pisa L., Goulson D., Yang E.-C., Gibbons D., Sánchez-Bayo F., Mitchell E., Aebi A., van der Sluijs J., Mac Quarrie C.J.K., Giorio C., et al. An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2021. – Vol. 28. – P. 11749-11797. DOI: 10.1007/s11356-021-12853-6
21. Sanchis V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: History of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review // Agron. Sustain. Dev. – 2011. – Vol. 31. – P. 217-231. DOI: 10.1051/agro/2010027
22. Scherthaner J.P., Milne R.E., Kaplan H. Characterization of a novel insect digestive DNase with a highly alkaline pH optimum // Insect Biochem Mol Biol. – 2002. – Vol. 32. – P. 255-263. DOI: 10.1016/S0965-1748(01)00084-4
23. Sexton S.E., Lei Z., Zilberman D. The Economics of Pesticides and Pest Control // Int. Rev. Environ. Resour. Econ. – 2007. – Vol. 1. – P. 271-326. DOI: 10.1561/101.000000007
24. Terenius O., Papanicolaou A., Garbutt J.S., Eleftherianos I., Huvenne H., Kanginakudru S., Albrechtsen M., An C., Aymeric J.L., Barthel A., et al. RNA interference in Lepidoptera: An overview of successful and unsuccessful studies and implications for experimental design // J. Insect Physiol. – 2011. – Vol. 57. – P. 231-245. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2010.11.006
25. Villanueva R.T., Gauthier N., Ahmed Z.M. First Record of *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae) in Industrial Hemp in Kentucky // Fla. Entomol. – 2021. – Vol. 103. – P. 514-515. DOI: 10.1653/024.103.00415
26. Vranjic J.A. 1.3.1 Effects on host plant // World Crop Pests. – 1997. – Vol. 7. – P. 323-336.
27. Warner J.R. The economics of ribosome biosynthesis in yeast // Trends Biochem. Sci. – 1999. – Vol. 24. – P. 437-440.
28. Weston D.P., Poynton H.C., Wellborn G.A., Lydy M.J., Blalock B.J., Sepulveda M.S., Colbourne J.K. Multiple origins of pyrethroid insecticide resistance across the species complex of a non-target aquatic crustacean, *Hyalomma azteca* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – Vol. 110. – P. 16532-16537. DOI: 10.1073/pnas.1302023110
29. Woodcock B.A., Bullock J.M., Shore R.F., Heard M.S., Pereira M.G., Redhead J., Ridding L., Dean H., Sleep D., Henrys P., et al. Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees // Science. – 2017. – Vol. 356. – P. 1393-1395. DOI: 10.1126/science.aaa1190

Статья поступила в редакцию 08.09.2025 г.

**Gal'chinsky N.V. Efficiency of the innovative oligonucleotide insecticide COCCUS-11 in the control of *Coccus hesperidum* L. // Bull Nikita Botan. Gard. – 2025. – № 157. – P.132-141.**

Insects significantly exceed all types of living organisms in terms of species diversity and total biomass, being one of the most prominent consumers of plants on the planet. To preserve crops, one of the main tasks in agriculture has always been the need to control and reduce the number of pest insects. The modern use of chemical insecticides leads to the accumulation of xenobiotics in nature and a reduction in biodiversity, including insects. Sustainable development of human society is impossible without beneficial insects, so pest control must be effective and selective. This article shows that the use of the contact oligonucleotide insecticide COCCUS-11 at a concentration of 100 ng/μl against the larvae of *Coccus hesperidum* L. resulted in the death of  $95.59 \pm 1.63$  % within 12 days. Natural oligonucleotide insecticides demonstrate a new method of pest control that is effective and safe for the environment.

**Keywords:** *DNA insecticides; CUADb; contact unmodified antisense DNA; brown soft scale; Japanese cheesewood; Coccus hesperidum L.; Pittosporum tobira (Thunb.) W.T. Aiton*