О.Ю. Еремина¹, В.В. Олифер¹, Ю.В. Лопатина^{1,2}
O.Yu. Eremina¹, V.V. Olifer¹, Yu.V. Lopatina^{1,2}

МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ЦИПЕРМЕТРИНУ И ФИПРОНИЛУ У РЫЖЕГО
ТАРАКАНА *BLATTELLA GERMANICA* (L.) (BLATTODEA: ECTOBIIIDAE)
MECHANISMS OF GERMAN COCKROACH *BLATTELLA GERMANICA* (BLATTODEA:
ECTOBIIIDAE) RESISTANCE TO CYPERMETHRIN AND FIPRONIL

¹ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора
²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
¹Scientific Research Disinfectology Institute, Moscow, Russia,
²Lomonosov Moscow State University

В лабораторных условиях косвенным токсикологическим методом исследован вклад ABC-транспортёров и ферментных систем (P450-зависимых монооксигеназ (МО), глутатион-S-трансфераз (GST), неспецифических эстераз (НЭ) в механизм резистентности к фипронилю и циперметрину у рыжего таракана *Blattella germanica* из трех географически разобщенных популяций – из Екатеринбурга (линия Bg-U1), Москвы (Bg-M1) и Обнинска (Bg-ОБН). В качестве ингибиторов использовали верапамил, пиперонилбутоксид (ППБ), диэтилмалеат (ДЭМ) и S,S,S-трибутилтретиофосфат (ТБТФ). Показатели резистентности к циперметрину и фипронилю составили для Bg-M1 17× и 26×, для Bg-ОБН - > 4000× и 50× и для Bg-U1 - 113× и 20×, соответственно. Резистентность *B. germanica* к циперметрину снижалась при использовании ППБ (Bg-U1) и ТБТФ (Bg-M1, Bg-ОБН), что косвенно свидетельствует об активном участии МО и НЭ в метаболизме этого инсектицида. Применение ТБТФ приводило к увеличению чувствительности к фипронилю у всех резистентных линий *B. germanica*, что указывает на вклад НЭ в механизм резистентности. Вклад ABC-транспортёров выявлен только для тараканов Bg-U1. Поскольку ни в одном случае не наблюдали полного подавления резистентности тараканов, предположено, что основным механизмом устойчивости является снижение чувствительности места действия инсектицидов за счет мутаций *Kdr*- и *Rdl*-типа, определяющих резистентность к пиретроидам и фенилпиразолам, соответственно.

Ключевые слова: рыжий таракан, *Blattella germanica*, механизмы резистентности, циперметрин, фипронил.

In laboratory conditions, the indirect toxicological method used to investigate the contribution of ABC-transporters and enzyme systems: P450-dependent monooxygenases (MO), glutathione S-transferases (GST), and non-specific esterases (EST) to the mechanism of resistance to fipronil and cypermethrin in the German cockroach, *Blattella germanica* of the three geographically dispersed populations: Bg-U1 (Yekaterinburg), Bg-M1 (Moscow) and Bg-OBN (Obninsk). Verapamil, piperonyl butoxide (PBO), diethyl maleate (DEM), and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (DEF) were used as inhibitors. The results provide evidence that metabolic resistance mechanisms are present within the assessed German cockroach populations. The resistance ratio (RR) to cypermethrin and fipronil was 17× and 26× for M1, > 4000× and 50× for OBN, 113× and 20× for Bg-U1, respectively. The resistance of *B. germanica* to cypermethrin decreased with the use of PBO in Bg-U1 and DEF in Bg-M1 and Bg-OBN strains, which indirectly indicates the active involvement of MO and EST in the metabolism of this insecticide. Only DEF caused a decrease of fipronil resistance in all cockroach strains that indicates the involvement of ESTs in the mechanism of resistance to this insecticide. The contribution of ABC-transporters was established only for cockroaches of Bg-U1 strain. Since we did not observe complete suppression of cockroach resistance in any case, it was assumed that the main mechanism of resistance is a decrease in the susceptibility of the site of insecticide action due to *Kdr* and *Rdl* mutations that determine resistance to pyrethroids and phenylpyrazoles, respectively.

Key words: German cockroach, *Blattella germanica*, resistance mechanisms, cypermethrin, fipronil.

Введение

Рыжий таракан *Blattella germanica* Linnaeus, 1767 является наиболее распространенным в помещениях синантропным

насекомым, имеющим гигиеническое и медицинское значение как механический переносчик и резервуар многих патогенных микроорганизмов и грибов [1, 2, 3, 4]. В медицинских организациях положение усугубляется нали-

чием резистентных к антибиотикам штаммов микроорганизмов [5]. В дополнение к этому тараканы – продуценты аллергенов, высокая численность тараканов может спровоцировать у атопических больных аллергические реакции, включая приступы бронхиальной астмы [2, 6]. Четыре вида синантропных тараканов, в том числе *B. germanica*, согласно мнению US Food and Drug Administration (US-FDA), относятся к группе 22 наиболее распространенных видов насекомых («Dirty 22»), участвующих в распространении многих патогенов. Присутствие этих видов в помещениях для переработки продуктов или в медицинских организациях является показателем антисанитарных условий [7].

Развитие у тараканов резистентности к инсектицидам – в настоящее время серьезная проблема, затрудняющая контроль их численности [8, 9, 10]. В мировой литературе приведены многочисленные сведения о развитии у рыжего таракана резистентности к различным классам инсектицидов [1, 11]. Согласно данным Комитета по резистентности к инсектицидам (IRAC), к 2016 г. рыжий таракан занял 16 место в топ-листе 20 резистентных видов насекомых [12]. Резистентность к инсектицидам у *B. germanica* обусловлена несколькими механизмами: снижением чувствительности мишеней к действию инсектицидов, увеличением активности АВС-транспортеров [13, 14] и ферментных систем, участвующих в детоксикации (неспецифических эстераз, монооксигеназ, глутатион-S-трансфераз) [8, 15, 16, 17, 18, 19], что приводит к появлению мультирезистентных особей, нечувствительных к разным группам применяемых инсектицидов.

Исследования, проведенные в последние годы в России, выявили высокую устойчивость рыжих тараканов к пиретроидам, особенно к циперметрину, к фенилпиразолам (фипронил) и ФОС (хлорпирифос), в некоторых случаях – к неоникотиноидам. Слабая толерантность или чувствительность сохранилась у тараканов только к производным карбаминовой кислоты [9, 10]. Несмотря на подробное изучение чувствительности тараканов к инсектицидам разных химических классов, механизмы, лежащие в основе вы-

явленной резистентности, не установлены. В связи с этим цель настоящего исследования – изучение токсикологическим методом вклада в механизм резистентности ферментных систем и АВС-транспортеров у рыжих тараканов из трех популяций из разных городов России.

Материалы и методы

В работе использованы рыжие тараканы *B. germanica* лабораторной чувствительной линии Bg-S-НИИД и собранные в Москве (Bg-M1, F₁₃), Обнинске (Bg-ОБН, F₈) и Екатеринбурге (Bg-Y1, F₄) на различных объектах. Тараканов культивировали в лабораторных условиях в течение 4-13 поколений без селекции инсектицидами. В опытах использованы самцы рыжих тараканов 1-3-недельного возраста, средняя масса которых составила 50-55 мг/особь (Bg-S-НИИД – 50.8±1.0; Bg-M1 – 55.1±0.8; Bg-ОБН – 51.6±1.3; Bg-Y1 – 53.3±0.25). Ацетоновые растворы действующих веществ (дв) в 5-7 логарифмически снижающихся концентрациях наносили по 1 мкл на переднегрудь анестезированных насекомых. Учет смертности проводили через 24 и 48 часов после обработки. Насекомых, неспособных самостоятельно перевернуться, относили к погибшим. Определяли показатели $СК_{50(95)}$, % (концентрация, при которой погибает 50% (95%) подопытных насекомых). Показатель резистентности (ПР) рассчитывали как отношение $СК_{50}$ инсектицида для тараканов изученных линий к $СК_{50}$ для чувствительной расы (Bg-S-НИИД). Резистентность тараканов к инсектицидам характеризовали согласно принятой шкале: ПР=1 – чувствительность, <10 – низкая резистентность (толерантность), 11-30 – средняя резистентность, 31-100 – высокая резистентность, >100 – экстремально высокая резистентность [20, 21].

При проведении экспериментов использовали следующие инсектициды: циперметрин № CAS 52315-07-8 [α -циано-3-феноксibenзиловый эфир 3-(2,2-дихлор-винил)-2,2-диметилциклопропан карбоновой кислоты], 95% технический продукт (т.п.); фипронил (№ CAS 120068-37-3, [5-амино-[2,6-дихлор-4-(трифторметил)фенил]-4-[(1R,S)-(трифторметил)сульфинил]-1H-пиразол-3-карбонитрил] 95%

т.п.). Для подавления активности ферментных систем применяли в качестве ингибитора монооксигеназ (МО) пиперонилбутоксид (ППБ) (CAS № 51-03-6, α -[2-(2-бутоксипропилокси)этокси]-4,5-метилendioкси-2-пропилтолуол, 90% т.п.); ингибитор глутатион-S-трансфераз (GST) диэтилмалеат (ДЭМ) (диэтиловый эфир малеиновой кислоты CAS №: 141-05-9, $\geq 96\%$ т.п.); ингибитор эстераз трибутилтретиофосфат (ТБТФ) (S,S,S-трибутилтретиофосфат, эфир ди- и третиофосфорной кислот, CAS № 78-48-8, аналитический стандарт 99%). Для подавления активности ABC-транспортёров использовали верапамил (№ CAS 152-11-4, альфа-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил] метиламино] пропил]-3,4-диметоксифенил- (1-метилэтил) бензолацетонитрил (гидрохлорид), 99% т.п.). Для растворения инсектицидов и синергистов использовали химически чистый ацетон.

Синергическое действие ингибиторов ферментных систем с инсектицидом определяли при их десинхронизированном нанесении. Ингибиторы и инсектициды наносили топиально в виде 0,1-1,0% ацетоновых растворов по 1 мкл на переднегрудь самцов рыжих тараканов 1-3 недельного возраста. ППБ, ТБТФ, ДЭМ наносили на насекомых за 2 ч., верапамил – за 20 час до топиальной обработки инсектицидом. Ингибиторы наносили в концентрациях, не оказывающие инсектицидного действия. В двух контрольных вариантах насекомых обрабатывали ацетоном (1 мкл/особь) и ацетоновым раствором ингибитора, соответственно. Коэффициент синергического действия (КСД) рассчитывали как отношение $СК_{50}$ для тараканов, обработанных инсектицидом, к $СК_{50}$ для насекомых, обработанных синергистом и инсектицидом. Эксперименты проводили в трехкратной повторности при комнатной температуре (22-25°C).

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с помощью компьютерной программы StatPlus 6.2.2.0. (AnalystSoft Inc., США).

Результаты

Циперметрин. Все линии рыжих тараканов оказались высоко устойчивыми к ципер-

метрину. Наименее устойчивой была московская линия насекомых Bg-M1 (17 $\times$), высокой резистентностью характеризовалась уральская линия Bg-Y1 из Екатеринбурга (113 $\times$) и экстремально высокой – обнинская Bg-ОБН (> 4000 $\times$).

Для чувствительных к инсектицидам тараканов линии Bg-S-НИИД токсичность циперметрина в сочетании с ППБ, ТБТФ и верапамилем возросла в 1.7, 1.5 и 1.3 раза, соответственно. Ингибирование GST при помощи ДЭМ не привело к увеличению чувствительности насекомых к циперметрину (табл.1).

В наибольшей степени синергизм ППБ и циперметрина проявлялся по отношению к насекомым высокоустойчивой уральской линии Bg-Y1 (113 $\times$) (КСД 2.7). Для насекомых линии Bg-M1 со средней устойчивостью к циперметрину (17 $\times$) влияние ППБ было менее выражено по сравнению с Bg-S-НИИД (КСД 1.5). У тараканов линии Bg-ОБН (>4000 $\times$) установить вклад окислительных ферментов не представилось возможным, поскольку смертность самцов как при обработке 5%-ным циперметрином, так и при последовательном нанесении синергиста и циперметрина составляла всего 10-20%.

Показатель КСД циперметрина с ТБТФ был достоверно выше по сравнению с Bg-S-НИИД только для насекомых московской линии Bg-M1 (2.2). Чувствительность к циперметрину при предобработке ТБТФ тараканов Bg-ОБН из обнинской популяции значительно возросла: 50% насекомых погибло при нанесении циперметрина в концентрации 6.0%, однако 95%-ного уровня смертности достигнуть не удалось.

КСД, полученный при последовательной обработке тараканов ДЭМ - ингибитором GST - и циперметрином тараканов московской линии Bg-M1, был сопоставим с таковым для чувствительной культуры Bg-S-НИИД (1.1 vs 1.0). Для обнинской линии *B. germanica* Bg-ОБН выявить влияние ДЭМ не удалось (гибель тараканов при применении синергиста и циперметрина не изменялась), и только у тараканов Bg-Y1 выявлено увеличение актив-

Таблица 1. Влияние ингибиторов ферментных систем и верапамила на резистентность рыжих тараканов к циперметрину.

Линия	ДВ / синергист	СК ₅₀ , % ±SE	χ ² (df)	КСД по СК ₅₀
Bg-S-НИИД	Циперметрин (Ц)	0.0012±0.0001	0.06 (3)	-
	Ц + ППБ	0.0007±0.0001	0.16 (3)	1.7
	Ц + ТБТФ	0.0008±0.0001	1.50 (5)	1.5
	Ц + ДЭМ	0.0012±0.0002	1.98 (4)	1.0
	Ц + вер	0.0009±0.0001	0.79 (4)	1.3
Bg-M1	Циперметрин (Ц)	0.020±0.003	2.56 (5)	-
	Ц + ППБ	0.013±0.003	0.03 (3)	1.5
	Ц + ТБТФ	0.009±0.001	0.12 (5)	2.2
	Ц + ДЭМ	0.019±0.002	1.06 (4)	1.1
	Ц + вер	0.015±0.002	1.80 (6)	1.3
Bg-ОВН	Циперметрин (Ц)	>5.0	-	-
	Ц + ППБ	>5.0	-	-
	Ц + ТБТФ	6.05	1.88 (3)	>1.2
	Ц + ДЭМ	>5.0	-	-
	Ц + вер	>5.0	-	-
Bg-Y1	Циперметрин (Ц)	0.136±0.007	5.55 (5)	-
	Ц + ППБ	0.051±0.008	0.02 (3)	2.7
	Ц + ТБТФ	0.080±0.008	0.12 (4)	1.7
	Ц + ДЭМ	0.095±0.014	6.96 (3)	1.4
	Ц + вер	0.080±0.010	3.82 (5)	1.7

ППБ – пиперонилбутоксид, ТБТФ – трибутилтретиофосфат, ДЭМ – диэтилмалеат, вер – верапамил; SE – стандартная ошибка среднего, КСД – коэффициент синергического действия.

ности GST (КСД 1.4).

КСД ингибитора АВС-транспортёров верапамила и циперметрина у насекомых Bg-Y1 был выше, чем у лабораторной чувствительной культуры Bg-S-НИИД (1.7). Для насекомых линии Bg-ОБН, имеющей сверхвысокие значения резистентности, установить КСД для циперметрина и верапамила не представилось возможным, поскольку не был достигнут уровень смертности 50%, тем не менее, гибель насекомых при предобработке верапамилем увеличилась на 10-20%.

Фипронил. Линии *B. germanica* Bg-Y1 и Bg-M1 характеризовались средней резистентностью к фипронилю (20× и 26×, соответственно), Bg-ОБН – высокой (50×).

Предобработка ингибиторами ферментных систем чувствительных к инсектицидам тараканов линии Bg-S-НИИД слабо влияла на их чувствительность к фипронилю. Наибольшее значение получено для ингибитора МО ППБ (КСД 1.3). С ингибитором эстераз ТБТФ получен антагонистический эффект (КСД 0.8), чувствительность тараканов Bg-S-НИИД к фипронилю при применении ингибитора GST ДЭМ не изменялась, т.е. синергизма не обнаружено. При применении верапамила, ингибитора АВС-транспортёров, чувствительность к фипронилю возрастала в 1.4 раза (табл. 2).

При предобработке ППБ резистентных к инсектицидам тараканов линий Bg-M1 и Bg-ОБН их чувствительность к фипронилю увеличилась незначительно. Только для насекомых линии Bg-Y1 наблюдали более выраженное синергическое действие ППБ и инсектицида (КСД 1.7). Использование ТБТФ, ингибирующего неспецифические эстеразы, привело к увеличению в различной степени токсичности фипронила по отношению к изученным линиям тараканов. Наиболее высокое значение КСД было получено для уральской линии Bg-Y1.

Ингибирование GST при помощи ДЭМ практически не влияло на чувствительность тараканов к фипронилю (КСД для Bg-M1 и Bg-ОБН – 1.2, Bg-Y1 – 0.8).

Предобработка тараканов верапамилем привела к некоторому увеличению чувствительности к фипронилю тараканов Bg-M1 и Bg-ОБН (КСД 1.8 и 1.7, соответственно).

За время содержания в лабораторных условиях без селекции инсектицидами реверсию чувствительности к пиретроидам наблюдали у насекомых линии Bg-M1 (13 поколений) – ПР к циперметрину за этот период времени снизился в 7.3 раза ($122\times \rightarrow 16.7\times$). Напротив, в линиях Bg-ОБН (8 поколений $>4000\times \rightarrow >4000\times$) и Bg-Y1 (4 поколения $117\times \rightarrow 113\times$) реверсия чувствительности к циперметрину не произошла. Резистентность к фипронилю у всех линий тараканов в течение разведения без селекции практически не изменилась: Bg-M1 ($26.0\times \rightarrow 26.4\times$), Bg-ОБН ($56.3\times \rightarrow 49.3\times$) и Bg-Y1 ($20.0\times \rightarrow 20.7\times$).

Обсуждение

У изученных мультрезистентных линий рыжего таракана наиболее высокая устойчивость установлена к соединениям из группы пиретроидов (Bg-M1 – $17\times$, Bg-Y1 – $133\times$ и Bg-ОБН – $>4000\times$), что может быть связано с многолетним применением в середине прошлого века хлорорганического соединения ДДТ, действующего, как и пиретроиды, на потенциал-зависимые натриевые каналы пресинаптической мембраны нервных клеток. Вместе с тем, в зависимости от применяемых инсектицидов, кратности обработок и соблюдения схем ротации создается мозаичное распределение резистентных популяций рыжих тараканов на территории городов России. В предыдущих исследованиях нами было установлено, что в городах встречаются популяции рыжие тараканы с разной степенью устойчивости к циперметрину: ПР от $5\times$ до $4000\times$ в Москве, от $167\times$ до $298\times$ в Екатеринбурге, $>4000\times$ в Обнинске [9, 10]. Аналогичные данные получены и в других странах мира, где наблюдали широкий диапазон устойчивости к пиретроидам у разных популяций рыжего таракана. В частности, резистентность *B. germanica* в США варьировала от средней до экстремально высокой ($29-337\times$) [22], в Малайзии – от слабой толерантности до экстремально высокой резистентности ($3-468\times$) [19].

Таблица 2. Влияние ингибиторов ферментных систем и верапамила на резистентность рыжих тараканов к фипронилю.

Линия	ДВ / синергист	СК ₅₀ , % ±SE	χ ² (df)	КСД по СК ₅₀
Bg-S-НИИД	Фипронил	0.00014±0.00002	4.58 (4)	-
	Ф + ППБ	0.00011±0.00002	0.22 (5)	1.3
	Ф + ТБТФ	0.00018±0.00001	1.70 (5)	0.8
	Ф + ТБТФ	0.00014±0.00001	3.07 (6)	1.0
	Ф + вер	0.00010±0.00002	4.53 (2)	1.3
Bg-M1	Фипронил	0.0037±0.0002	5.58 (7)	-
	Ф + ППБ	0.0025±0.0002	0.013 (4)	1.5
	Ф + ТБТФ	0.0029±0.0002	1.38 (5)	1.3
	Ф + ДЭМ	0.0031±0.0003	0.46 (3)	1.2
	Ф + вер	0.0021±0.0001	2.75 (6)	1.8
Bg-ОБН	Фипронил	0.0069±0.0007	0.36 (6)	-
	Ф + ППБ	0.0048±0.0004	0.88 (6)	1.4
	Ф + ТБТФ	0.0044±0.0002	0.62 (6)	1.6
	Ф + ДЭМ	0.0060±0.0007	0.95 (6)	1.2
	Ф + вер	0.0041±0.0003	4.70 (5)	1.7
Bg-Y1	Фипронил	0.0028±0.0003	0.18 (6)	-
	Ф + ППБ	0.0017±0.0001	0.13 (3)	1.7
	Ф + ТБТФ	0.0010±0.0001	3.22 (7)	2.8
	Ф + ДЭМ	0.0037±0.0002	1.56 (3)	0.8
	Ф + вер	0.0021±0.0001	2.75 (6)	1.3

Обозначения как в табл. 1.

МО являются одной из наиболее важных ферментных систем. Они катализируют протекание множества реакций и характеризуются широкой субстратной специфичностью [23, 24]. Все пиретроиды (и в частности, циперметрин), попадая в организм насекомых, подвержены действию окислительных ферментов реакции гидроксилирования (внедрения атома кислорода по связи C–H). Вовлеченность МО в механизм резистентности к пиретроидам у *B. germanica* подтверждено данными литературы. В частности, у резистентных к дельтаметрину рыжих тараканов применение ППБ значительно увеличивало чувствительность насекомых к этому инсектициду ($97\times \rightarrow 17\times$) [8, 25]. Обработка тараканов ППБ в 1.5-2.5 раза повышала чувствительность резистентных насекомых к цифлутрину [18]. В Индонезии обнаружена популяция рыжих тараканов, у которой увеличение активности МО играло основную роль в механизме резистентности к перметрину ($95\times$) – КСД был равен 70 [17].

Действие эстераз, гидролизующих сложноэфирные группы, приводит к расщеплению исходной молекулы на кислотную и спиртовую компоненты и дальнейшему эпокси-дированию с последующим окислением и расщеплением до неактивных метаболитов [23, 24]. В Сингапуре вклад эстераз в резистентность рыжих тараканов к пиретроидам (дельтаметрин, бета-цифлутрин) установлен в 5 популяциях из 22 исследованных [19]. Следует отметить, что исследование с помощью синергистов, проведенное на американском таракане *Periplaneta americana* Burmeister, 1838 *in vitro* и *in vivo*, показало, что расщепление сложноэфирной связи у перметрина и циперметрина может быть как окислительным (вклад МО) для (1RS)-цис-изомера, так и гидролитическим (вклад эстераз) для (1RS)-транс-изомера [26].

Проведенное нами исследование с помощью ингибиторов ферментных систем показало, что вклад МО в детоксикацию циперметрина выражен только у линии тараканов Bg-Y1. При ингибировании неспецифических эстераз наблюдали увеличение токсичности инсектицида для всех резистентных насекомых: в 2.2 раза у тараканов линии Bg-M1, в

1.7 раз - у Bg-Y1 и более чем в 1.2 раза - у Bg-ОБН. Следует отметить, что только при использовании ингибирующего эти ферменты ТБТФ, удалось определить показатель $СК_{50}$ циперметрина для высокоустойчивой к пиретроидам линии Bg-ОБН. Использование ДЭМ - ингибитора GST - вызвало увеличение чувствительности к циперметрину только у уральской линии насекомых из Екатеринбурга (КСД 1.4). В литературе имеются сопоставимые данные: у тараканов, толерантных к циперметрину и дельтаметрину ($\max 2.27\times$), ингибирование GST приводит к увеличению токсичности этих пиретроидов в 1.2-1.8 раза [16]. Вклад ABC-транспортёров в детоксикацию циперметрина нами установлен только для тараканов линии Bg-Y1.

Устойчивость к фенилпиразолу фипрони-лу рыжих тараканов линий Bg-M1 ($26\times$), Bg-ОБН ($50\times$) и Bg-Y1 ($20\times$) была значительно ниже по сравнению с таковой к циперметрину. Следует заметить, что и в других странах наблюдают обычно толерантность, либо среднюю устойчивость *B. germanica* к фипрони-лу, редко выявляя более высокий уровень. В частности, в Дании показатель резистентности составлял $2-15\times$ [27], в США - $7-36\times$ [28], в Малайзии - $1-10\times$ [19]. У рыжих тараканов линии GNV-R, собранной во Флориде в 2006 г., установлена 36-кратная резистентность к фипрони-лу [28]. Предполагается, что резистентность к фипрони-лу в популяциях рыжих тараканов может быть обусловлена широким использованием в 20-м веке циклодиеновых инсектицидов, и как следствие – увеличением доли особей, несущих *Rdl*-резистентный аллель [29]. Не исключено, что достаточно высокий уровень устойчивости *B. germanica* к фипрони-лу в России обусловлен частым применением пищевых приманок для тараканов, содержащих 0.05% фипронила. Возможно также влияние несанкционированного применения сельскохозяйственных пестицидов для уничтожения тараканов в условиях города.

Механизм действия фенилпиразолов аналогичен таковому хлорорганических соединений диенового синтеза (линдан, дилдрин) и состоит в блокировании хлорных каналов нервно-мышечных синапсов насекомых, где

медиатором торможения является гамма-аминомасляная кислота (ГАМК). Ингибирование ГАМК-рецептора фипронилом является частично обратимым, тогда как ингибирование соединениями диенового синтеза, в частности дилдрином – необратимым [30]. Основным метаболитом окисления фипронила у насекомых и млекопитающих является фипронил-сульфон. Образующиеся в окружающей среде метаболиты – сульфиды, сульфоны и сульфорины – также обладают инсектицидным действием [31, 32]. Фипронил-сульфон связывается с рецептором ГАМК и, как полагают, играет важную роль при отравлении насекомых фипронилом [33].

В литературе имеется ряд сведений о том, что десинхронизированное применение ППБ и фипронила приводило к антагонизму, поскольку фипронил-сульфон (LD_{50} 0.22 нг/мг массы тела насекомого), образующийся в результате окисления фипронила МО более токсичен, чем сам фипронил (LD_{50} 0.42 нг/мг) [34]. Так, например, при исследовании тараканов из пяти городских популяций, устойчивых к фипронилу, выявлен антагонизм между ППБ, ТБТФ и фипронилом: при предобработке насекомых ингибиторами МО и НЭ чувствительность тараканов к фипронилу повышалась в 2.2-3.0 раза. Этот факт свидетельствует о метаболической активации фипронила в организме рыжего таракана, возможно в результате образования фипронил-сульфона, катализируемого МО [35]. Сходные данные получены в отношении комнатной мухи *Musca domestica* L., 1758 (Diptera: Muscidae) [36], западного кукурузного корневого жука *Diabrotica virgifera* LeConte, 1868 (Coleoptera: Chrysomelidae), кукурузной огневки *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Crambidae) [31].

В проведенных нами экспериментах антагонизма между ППБ и фипронилом не выявлено. Для тараканов линий Bg-S-НИИД, Bg-M1 и Bg-ОБН ингибирование МО в 1.3-1.5 раза повышало чувствительность к фипронилу, для Bg-Y1 – в 1.7 раза. Ингибирование неспецифических эстераз привело к увеличению чувствительности к фипронилу резистентных линий – в 1.3, 1.6, и 2.8 раза, соответственно, при антагонистическом действии этого

ингибитора на чувствительных к инсектицидам тараканов Bg-S- НИИД. Сопоставимые данные были получены исследователями и в США: ТБТФ повышал токсичность фипронила для рыжих тараканов (ПР снижался вдвое – с $36\times$ до $18\times$), хотя в молекуле фипронила отсутствуют связи, которые могут быть подвергнуты эстеразному гидролизу. Возможно, выявленный факт связан с неспецифическим ингибированием ТБТФ цитохром Р450-зависимых МО, вовлеченных в детоксикацию фипронила. Таким образом, ТБТФ может конкурентно ингибировать ферменты Р450, окисляющие тиозэфирную группу молекулы фипронила, потенциально лимитируя образование сульфононов [28].

По-видимому, GST в малой степени вовлечены в формирование резистентности у изученных нами резистентных популяций тараканов, поскольку на чувствительность к фипронилу ингибитор этой ферментной системы ДЭМ влияния практически не оказывал.

Вклад АВС-транспортеров установлен для насекомых из Москвы (КСД 1.8) и Обнинска (КСД 1.7). Полученные нами результаты о влиянии АВС-транспортеров на инсектицидную активность ряда пестицидов находят подтверждение в мировой литературе. Нанесение сублетальной дозы верапамила за 24 часа до топикального нанесения хлорпирифоса на самцов рыжего таракана повышало чувствительность к нему резистентных особей в 7.2 раза [19].

Поскольку ни один из синергистов не подавлял полностью резистентность тараканов ни к циперметрину, ни к фипронилу, можно сделать вывод о множественных механизмах резистентности, а также предположить второстепенную роль ферментных систем и АВС-транспортеров. Отсутствие реверсии чувствительности к фипронилу у тараканов всех резистентных линий, а также к циперметрину у насекомых из Обнинска и Екатеринбурга может быть косвенным показателем наличия у этих линий тараканов *Rdl*- и *Kdr*- мутаций, соответственно. К настоящему времени у *B. germanica* выявлено несколько *Kdr*-мутаций гена *vssc1*, приводящих к аминокислотным заменам в α -субъединице белка

натриевого канала: L1014F, F1020S, D59G, E435K, C785R, P1999L [22, 24, 36, 37, 38, 39, 40]. Устойчивость к фенилпиразолам связана у рыжего таракана с *Rdl*-мутацией A302S которая является ключевой для формирования *Rdl* - фенотипа у многих видов насекомых [41, 42, 43], что может служить примером параллельной эволюции.

Таким образом, у изученных нами географически разобщенных (Москва, Обнинск, Екатеринбург) популяций рыжих тараканов устойчивость к инсектицидам проявляется в различной степени. При этом механизмы резистентности в изученных популяциях *B. germanica* различались: вклад трех ферментных систем (неспецифических эстераз, GST, MO) и ABC-транспортеров в механизм резистентности был различен в каждой популяции. Поскольку при применении ингибиторов ферментных систем и ABC-транспортеров резистентность не была подавлена полностью, участие всех изученных систем играет только вспомогательную роль в ее формировании. По-видимому, основным механизмом, определяющим устойчивость к пиретроидам и фенилпиразолам, является снижение чувствительности места действия инсектицидов, обусловленное *Kdr*-мутациями у устойчивых к пиретроидам насекомых и *Rdl*-мутациями – у устойчивых к фипронилю. Выявлению этих мутаций и будут посвящены дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Pai H.H., Chen W.C., Peng C.F.* Isolation of bacteria with antibiotic resistance from household cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*) // *Acta Trop.* 2005. V. 93. P. 259–265.
2. *Kinfu A., Erko B.* Cockroaches as carriers of human intestinal parasites in two localities in Ethiopia // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008. V. 102. P. 1143–1147.
3. *Fakoorziba M.R., Shahriari-Namadi M., Moemenbellah-Fard M.D., Hatam G.R., Azizi K., Amin M., Motevasel M.* Antibiotics susceptibility patterns of bacteria isolated from American and German cockroaches as potential vectors of microbial pathogens in hospitals // *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 2014. V. 4 (Suppl 2). S790-S794.
4. *Nasirian H.* Contamination of cockroaches (Insecta: Blattaria) to medically fungi: A systematic review and meta-analysis // *J. Mycol. Med.* 2017. V. 27 № 4. P.427-448.
5. *Wannigama D.L., Dwivedi R., Zahraei-Ramazani A.* Prevalence and antibiotic resistance of Gram-negative pathogenic bacteria species isolated from *Periplaneta americana* and *Blattella germanica* in Varanasi, India // *J. Arthropod-Borne Dis.* 2014. V. 8. № 1. P. 10- 20.
6. *Arruda L.K., Vailes L.D., Ferriani V.P., Santos A.B., Pomés A., Chapman M.D.* Cockroach allergens and asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001. V. 107. № 3. P.419-428.
7. *Sulaiman I.M., Jacobs E., Simpson S., Kerdahi K.* Identification of 18 vector species belonging to Group I, Group II, and Group III «Dirty 22» species known to contaminate food and spread foodborne pathogens: DNA barcoding study of public health importance // *Int. J. Trop. Insect Sci.* 2017. V. 37. № 1. P. 1-10.
8. *Wei Y., Appel A.G., Moar W.J., Liu N.* Pyrethroid resistance and cross-resistance in the German cockroach, *Blattella germanica* (L) // *Pest. Manag. Sci.* 2001. V.57. № 11. P. 1055-1059.
9. *Ерёмина, О.Ю. Олехнович, Е.И. Олифер В.В., Геворкян И.С., Ибрагимхалилова И.В.* Исследование резистентности рыжих тараканов к пиретроидам // *Дездело* 2017 № 1 С. 39-44. [*Eremina O.Yu., Olekhnovich E.I., Olifer V.V., Gevorkyan I.S., Ibragimkhalilova I.V.* The study of German cockroaches resistance to pyrethroids // *Dezinfektsionnoe delo* 2017. № 1, P. 39-44 - in Russian].
10. *Ерёмина О.Ю., Олехнович Е.И., Олифер В.В., Ибрагимхалилова И.В., Геворкян И.С. Бендрышева С.Н., Сарвин Б.А.* Исследование резистентности рыжих тараканов к фипронилю // *Дез. дело* 2016 №2, С. 34-41. [*O.Yu. Eremina, E.I.Olekhnovich, V.V.Olifer, I.V. Ibragimkhalilova, I.S.Gevorkyan, S.N. Bendrysheva, and B.A. Sarvin.*

The study of German cockroaches resistance to fipronil // *Dezinfektsionnoe delo* 2016. № 2, P. 34-42 - in Russian].

11. Limoe M., Davari B., Moosa-Kazemi S.H. Toxicity of pyrethroid and organophosphorus insecticides against two field collected strains of the German cockroach *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae) // *J. Arthropod Borne Dis.* 2012. V. 6. № 2. P. 112-118.

12. Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD) / 50th IRAC International Meeting, Dublin. April 5-8th, 2016. – Эл. pecыпc: www.irac-online.org/documents/resistance-database-team-update-2016/?ext=pdf.

13. Hou W., Jiang C., Zhou X., Qian K., Wang L., Shen Y., Zhao Y. Increased expression of P-glycoprotein is associated with chlorpyrifos resistance in the German cockroach (Blattodea: Blattellidae) // *J. Econ. Entomol.* 2016. V.109. № 6. P. 2500-2505.

14. Zhang F., Wang X.J., Huang Y.H., Zhao Z.G., Zhang S.S., Gong X.S., Xie L., Kang D.M., Jing X. Differential expression of hemolymph proteins between susceptible and insecticide-resistant *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) // *Environ. Entomol.* 2014. V. 43. № 4. P. 1117-1123.

15. Lee C.Y., Hemingway J., Yap H.H., Chong N.L. Biochemical characterization of insecticide resistance in the German cockroach, *Blattella germanica*, from Malaysia // *Med. Vet. Entomol.* 2000. V. 14. P. 11-18.

16. Enayati A.A., Haghi F.M. Biochemistry of pyrethroid resistance in German cockroach (Dictyoptera, Blattellidae) from hospitals of Sari, Iran. *Iranian Biomed* // *J.* 2007. V. 11. № 4. P. 251-258.

17. Ahmad I., Astari S., Putra R.E., Permana A.D. Monitoring pyrethroid resistance in field collected *Blattella germanica* Linn. (Dictyoptera: Blattellidae) in Indonesia // *Entomol. Res.* 2009. V. 39. P. 114-118.

18. Doroudgar A., Paksa A., Vatandoost H., Sanei-Dehkordi A., Salim-Abadi Y. Detection of cyfluthrin resistance mechanisms among German cockroach strains in vivo in Kashan during 2011-

2012 // *Feyz. J. Kashan Univ. Med. Sci.* 2014. V. 17. № 6. P. 590-596.

19. Chai R.-Y., Lee C.-Y. Insecticide resistance profiles and synergism in field populations of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) from Singapore // *J. Econ. Entomol.* 2010. V. 103, № 2. P. 460-471.

20. Torres-Vila L.M., Rodriguez-Molina M.C., Lacasa-Plasencia A., Bielza-Lino P., Rodriguez-del-Rincon A. Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* in Spain: current status and agroecological perspective // *Agric. Ecosyst. Environ.* 2002. V. 93. № 1-3. P. 55-66.

21. Santos V.C., de Siqueira H.A.A., da Silva J.E., de Farias M.J.D.C. Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco // *Brazil. Neotrop. Entomol.* 2011. V. 40. № 2. P. 264-270.

22. Atkinson T.H., Wadleigh R.W., Koehler P.G., Patterson R.S. Pyrethroid resistance and synergism in a field strain of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) // *J. Econ. Entomol.* 1991. V. 84. № 4. P. 1247-1250.

23. Liu N., Yue X. Insecticide resistance and cross-resistance in house fly (Diptera: Muscidae) // *J. Econ. Entomol.* 2000. V.93. № 4. P. 1269-1275.

24. Wen Z., Scott J.G. Cross-resistance to imidacloprid in strains of German cockroach (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*) // *Pestic. Sci.* 1997. V. 49, № 4. P. 367-371.

25. Pridgeon J.W., Appel A.G., Moar W.J., Liu N. Variability of resistance mechanisms in pyrethroid resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) // *Pestic. Biochem. Physiol.* 2002. V. 73. P. 149-156.

26. Holden J.S. Absorption and metabolism of permethrin and cypermethrin in the cockroach and the cotton-leafworm larvae // *Pest. Manag. Sci.* 1979. V. 10, Issue 4, P. 295-307.

27. Kristensen M., Hansen K.K., Jensen K.-M.V. Cross-resistance between dieldrin and fipronil

- in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) // J. Econ. Entomol. 2005. V. 98. № 4. P. 1305-1310.
28. Gondhalekar A.D., Scharf M.E. Mechanisms underlying fipronil resistance in a multiresistant field strain of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae) // J. Med. Entomol. 2012. V. 49. № 1. P. 122-131.
 29. Ffrench-Constant R.H., Anthony N., Aronstein K., Rocheleau T., Stilwell G. Cyclodiene insecticide resistance: from molecular to population genetics // Annu. Rev. Entomol. 2000. V. 45. P. 449-466.
 30. Zhao X., Salgado V.L., Yeh J.Z., Narahashi T. Differential actions of fipronil and dieldrin insecticides on GABA-gated chloride channels in cockroach neurons // J. Pharmacol. Exp. Therap. 2003. V. 306, № 3. P. 914-924.
 31. Durham E.W., Siegfried B.D., Scharf M.E. *In vivo* and *in vitro* metabolism of fipronil by larvae of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* // Pest. Manag. Sci. 2002. V. 58, Issue 8. P. 799-804.
 32. Scharf M.E., Siegfried B.D., Meinke L.J., Chandler L.D. Fipronil metabolism, oxidative sulfone formation and toxicity among organophosphate- and carbamate-resistant and susceptible western corn rootworm populations // Pest. Manag. Sci. 2000. V. 56. P. 757-766.
 33. Zhao X., Yeh J.Z., Salgado V.L., Narahashi T. Sulfone metabolite of fipronil blocks γ -aminobutyric acid- and glutamate-activated chloride channels in mammalian and insect // Neurons J. Pharmacol. Exp. Therap. 2005. V. 314. № 1. P. 363-373.
 34. Scharf M.E., Siegfried B.D. Toxicity and neurophysiological effects of fipronil and fipronil sulfone on the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) // Arch. Insect Biochem. Physiol. 1999. V. 40. P. 150-156.
 35. Valles S.M., Koehler P.G., Brenner R.J. Antagonism of fipronil toxicity by piperonyl butoxide and S,S,S-tributyl phosphotriethioate in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) // J. Econ. Entomol. 1997. V. 90. № 5. P. 1254-1258.
 36. Kristensen M., Jespersen J.B., Knorr M. Cross-resistance potential of fipronil in *Musca domestica* // Pest Manag. Sci. 2004. V. 60, Issue 9. P. 894-900.
 37. Gholizadeh S., Nouroozi B., Ladonni H. Molecular detection of knockdown resistance (kdr) in *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) from Northwestern Iran // J. Med. Entomol. 2014. V. 51. № 5. P. 976-979.
 38. Dong K. Insect sodium channels and insecticide resistance // Invert Neurosci. 2007. V. 7. P. 17-30.
 39. Dong K., Du Y., Rinkevich F., Nomura Y., Xu P., Wang L., Silver K., Zhorov B.S. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance // Insect Biochem. Mol. Biol. 2014. V. 50. P. 1-17.
 40. Miyazaki M., Ohyama K., Dunlap D.Y., Matsumura F. Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and kdr-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and housefly (*Musca domestica*) // Mol. Gen. Genet. 1996. V. 252, P. 61-68.
 41. Wondji C.S., Dabire R.K., Tukur Z., Irving H., Djouaka R., Morgan J.C. Identification and distribution of a GABA receptor mutation conferring dieldrin resistance in the malaria vector *Anopheles funestus* in Africa // Insect Biochem. Mol. Biol. 2011. V. 41. P. 484-491.
 42. Casida J.E., Durkin K.A. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects // Annu. Rev. Entomol. 2013. V. 58. P. 99-117.
 43. Ang L.-H., Nazni W.A., Kuah M.-K., Shu-Chien A.C., Lee C.-Y. Detection of the A302S *Rdl* mutation in fipronil bait-selected strains of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) // J. Econ. Entomol. 2013. V. 106. № 5. P. 2167-2176.

Поступила 31.06.19