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

МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ХЛОРПИРИФОСУ И ПРОПОКСУРУ У РЫЖЕГО ТАРАКАНА *BLATTELLA GERMANICA* (L.) (BLATTODEA: ECTOBIIDAE)
RESISTANCE MECHANISMS TO CHLORPYRIFOS AND PROPOXUR IN GERMAN COCKROACH *BLATTELLA GERMANICA* (L.) (BLATTODEA: ECTOBIIDAE)

¹ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

¹Scientific Research Disinfectology Institute, Moscow, Russia;

²Moscow State University, Russia

Тараканы *Blattella germanica* (L.) из Москвы (линия Bg-M1), Обнинска (Bg-ОБН) и Екатеринбурга (Bg-У1) проявляли среднюю резистентность к ФОС (показатель резистентности (ПР) к хлорпирифосу Bg-M1 - 13×, Bg-ОБН - 15×, Bg-У1 - 18×) и чувствительность или слабую толерантность (ПР к пропоксуру - 1,8×, 0,7×, 0,8×, соответственно). Механизмы резистентности исследовали топикальным методом с помощью ингибиторов различных систем детоксикации - монооксигеназ (ППБ), эстераз (ТБТФ), глутатион-S-трансфераз (ДЭМ) и АВС-транспортеров (верапамил) - в сочетании с 5-7 концентрациями инсектицидов. Устойчивость к ФОС и карбаматам была значительно снижена с помощью ТБТФ, что свидетельствует о значительном вкладе эстераз в резистентность тараканов к хлорпирифосу (коэффициент синергического действия (КСД) 38-146) и пропоксуру (КСД 2.5-8.0). Вклад других ферментных систем - монооксигеназ и глутатион-S-трансфераз, а также АВС-транспортеров был менее выражен.

Ключевые слова: *Blattella germanica*, хлорпирифос, пропоксур, синергисты, монооксигеназы, эстеразы, глутатион-S-трансферазы, АВС-транспортеры

Three strains of German cockroach *Blattella germanica* (L.) from Moscow (Bg-M1), Obninsk (Bg-OBN) and Ekaterinburg (Bg-U1) showed moderate resistance to OPs (resistance ratio (RR) to chlorpyrifos Bg-M1 13×, Bg-OBN 15×, Bg-U1 18×, respectively), susceptibility or weak tolerance to carbamates (RR to propoxur 1.8×, 0.7×, 0.8×, respectively). Mechanisms of resistance were investigated by topical application of inhibitors of monooxygenases (PBO), esterases (DEF), glutathione S-transferases (DEM) and ABC transporters (verapamil), combined with 5-7 insecticide concentrations. Resistance to chlorpyrifos and propoxur was maximally reduced by DEF that indicated the participation of esterases in resistance to chlorpyrifos (synergistic ratios were 38-146), and propoxur (SR 2.5-8.0). Other enzyme systems, monooxygenases and glutathione S-transferases, as well as ABC transporters are less involved in the mechanisms of resistance.

Key words: *Blattella germanica*, chlorpyrifos, propoxur, synergists, monooxygenases, esterases, glutathione S-transferase, ABC transporters

Введение

Рыжий таракан *Blattella germanica* (Linneus, 1767), часто заселяющий жилые помещения, является одним из широко распространенных видов синантропных насекомых. Аллергенные свойства продуктов жизнедеятельности тараканов в сочетании со способностью *B. germanica* механически

переносить возбудителей различных заболеваний человека определяют существенное медицинское значение этого вида [1, 2]. Попытки контролировать численность этого вида нередко терпят неудачу из-за формирования под действием инсектицидного прес-са мультирезистентных к инсектицидам популяций тараканов.

Первый случай резистентности *B.*

germanica был зарегистрирован в 1950-х годах к ДДТ [3]. В дальнейшем сообщения об устойчивости к инсектицидам *B. germanica* стали появляться регулярно [4-7]. Согласно обобщающей эти сведения базе данных по устойчивости членистоногих к пестицидам (Arthropod Pesticide Resistance Database), созданной на базе Мичиганского университета, в мире зарегистрировано 279 случаев резистентности рыжего таракана к 43 инсектицидам из 8 групп химических веществ [8]. Больше всего было обнаружено популяций *B. germanica*, резистентных к пиретроидам (43,4% от общего числа доказанных случаев резистентности), особенно к цианосодержащим – циперметрину и дельтаметрину (17%), фосфорорганическим соединениям (ФОС) и производным карбаминовой кислоты (карбаматам) – около 30%, к хлорорганическим соединениям – 20%.

Часто встречаются мультирезистентные популяции рыжего таракана, резистентные к ФОС (max 33×) и производным карбаминовой кислоты (карбаматам) (max 14×) на фоне высокой устойчивости к пиретроидам (max 480×) [5, 9]. *B. germanica* часто используют в качестве модельного объекта для изучения физиологических и биохимических механизмов, связанных с устойчивостью к инсектицидам [10].

В основе резистентности лежат специфические (базируются на мутациях генов, кодирующих белки-рецепторы, мембранные каналы) и неспецифические механизмы (универсальные детоксицирующие ферменты, барьерные структуры и т.д.) [11]. При увеличении активности ферментных систем, участвующих в детоксикации ксенобиотиков, появляется так называемая «метаболическая» устойчивость [9, 12].

Вовлечением ферментных систем и АВС-транспортеров в механизм резистентности к ФОС и карбаматам неоднократно выявлено у резистентных к этим группам инсектицидов тараканов *B. germanica* [13, 14].

Наше предыдущее сообщение было посвящено механизмам резистентности к пиретроидам (на примере циперметрина) и фенилпиразолам (на примере фипронила)

у трех мультирезистентных линиях рыжего таракана, исходным материалом для которых послужили насекомые, собранные в Москве, Обнинске и Екатеринбурге [15]. Цель настоящего исследования – изучение токсикологическим методом механизмов резистентности тараканов этих линий к хлорпирифосу (группа фосфорорганических соединений) и пропоксуру (группа производных карбаминовой кислоты). Для этого были использованы ингибиторы основных ферментных систем, участвующих в детоксикации ксенобиотиков (монооксигеназы, глутатион-S-трансферазы, неспецифические эстеразы), а также АВС-транспортеров.

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 СК₅₀ инсектицида для тараканов изученных линий к СК₅₀ 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 высо-

Таблица 1. Резистентность лабораторных линий тараканов к инсектицидам

Название линии	Показатель резистентности				
	циперметрин	хлорпирифос	пропоксур	фипронил	ацетамиприд
Bg-M1	17	13	1.8	26	9.5
Bg-ОБН	> 4000	15	0.7	50	3.4
Bg-Y1	113	18	0.8	20	4.2

кая резистентность [16].

При проведении экспериментов использовали следующие инсектициды: хлорпирифос 97% технический продукт (ТП), CAS No 2921-88-2, О,О-диэтил-О-(3,5,6-трихлор-2-пиридинил) фосфоротиоат; пропоксур 97% ТП, CAS No 114-26-1, 2-(1-метилэтокси)фенил N-метилкарбамат (Китай). Ингибиторы ферментных систем (синергисты): ингибитор монооксигеназ (МО) пиперонилбутоксид (ППБ), CAS № 51-03-6, α-[2-(2-бутоксизтокси)этокси]-4,5-метилendioкси-2-пропилтолуол, 90% ТП (Aldrich); ингибитор глутатион-S-трансфераз (GST) диэтилмалеат (ДЭМ) - диэтиловый эфир малеиновой кислоты, CAS №: 141-05-9, ≥96% ТП, (Aldrich); ингибитор эстераз трибутилтретиофосфат (ТБТФ, DEF), S,S,S-трибутилтретиофосфат, эфир ди- и третиофосфорной кислот, CAS № 78-48-8, аналитический стандарт 99% (Sigma-Aldrich, Supelco); ингибитор ABC-транспортёров, блокатор потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа верапамил (ВЕР) № CAS 152-11-4, альфа-[3-[[2-(3,4-диметоксифенил)этил] метиламино] пропил]-3,4-диметокси-альфа-(1-метилэтил) бензолацетонитрил (гидрохлорид), 99% ТП, V4629 Sigma-Aldrich-Merck (США). 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 топикально 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 топикальной 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

Хлорпирифос. Все мультирезистентные линии рыжего таракана проявили среднюю резистентность к хлорпирифосу. Значения показателей резистентности к этому инсектициду во всех линиях было сопоставимым (Bg-M1 - 13×, Bg-Y1 - 18× и Bg-ОБН – 15×) (таблице 1). Значения показателей инсектицидной активности хлорпирифоса и его КСД с различными ингибиторами систем детоксикации приведены в таблице 2.

Применение ингибитора эстераз ТБТФ привело к увеличению чувствительности тараканов всех линий к хлорпирифосу. Наибольшее значение КСД ТБТФ и хлорпирифоса получено для тараканов линии Bg-Y1: чувствительность насекомых возросла бо-

Таблица 2. Влияние ингибиторов ферментных систем и верапамила на чувствительность рыжих тараканов к хлорпирифосу

Линия (ПР*)	ДВ / синергист	СК ₅₀ **, % ±SE	χ ² (df)	КСД*** по СК ₅₀
Bg-S-НИИД	Хлорпирифос	0,024±0.002	2,94 (4)	
	Хл + ППБ	0,018±0.002	1,21 (3)	1,3
	Хл + ТБТФ	0,0017±0.0002	1,11 (3)	14,1
	Хл + ДЭМ	0,013±0.001	0,75 (3)	1,9
	Хл + ВЕР	0,006±0.001	1,51 (4)	2,9
Bg-M1 (13×)	Хлорпирифос	0,309±0.014	6,51 (5)	-
	Хл + ППБ	0,155±0.015	0,73 (6)	2,0
	Хл + ТБТФ	0,008±0.001	4,27 (5)	38,6
	Хл + ДЭМ	0,322±0.024	6,52 (5)	1,0
	Хл + ВЕР	0,266±0.011	1,25 (6)	1,2
Bg-ОБН (15×)	Хлорпирифос	0,369±0.016	1,32 (6)	-
	Хл + ППБ	0,335±0.022	1,31 (6)	1,1
	Хл + ТБТФ	0,003±0.001	0,03 (3)	123,0
	Хл + ДЭМ	0,396±0.078	1,76 (3)	0,9
	Хл + ВЕР	0,282±0.016	0,66 (6)	1,3
Bg-Y1 (18×)	Хлорпирифос	0,439±0.023	1,69(4)	-
	Хл + ППБ	0,146±0.020	0,17 (2)	3,0
	Хл + ТБТФ	0,003±0.001	0,28 (7)	146,3
	Хл + ДЭМ	0,150±0.015	0,04 (3)	2,9
	Хл + ВЕР	0,354±0.019	2,22 (5)	1,2

*ПР – показатель резистентности, ** СК₅₀ – среднесмертельная концентрация, при которой погибает 50% особей в эксперименте, ***КСД – коэффициент синергического действия.

лее, чем в 140 раз практически полностью подавляя устойчивость к хлорпирифосу. У тараканов линии Bg-ОБН предобработка ТБТФ привела к сопоставимым результатам: $СК_{50}$ хлорпирифоса снизилась в 120 раз. Наименьшее увеличение чувствительности к хлорпирифосу вызвал ТБТФ (в 38,6 раз) у тараканов линии Bg-M1. Наименьший синергизм установлен у *B. germanica* из лабораторной чувствительной к инсектицидам культуры Bg-S-НИИД при действии ТБТФ и хлорпирифоса: КСД был равен 14.

Влияние ингибитора монооксигеназ ППБ на чувствительность насекомых к хлорпирифосу было выражено значительно менее, что было показано для двух линий: Bg-Y1 (КСД 3,0) и Bg-M1 (КСД 2,0). У тараканов линии Bg-ОБН в сравнении с чувствительной культурой Bg-S-НИИД вклад МО в механизм детоксикации был еще ниже (КСД 1.1 vs 1.3).

Менее всего был выражен синергизм хлорпирифоса с ДЭМ, ингибитором глутатион-S-трансфераз. В наибольшей степени вклад GST в резистентность был показан для линии Bg-Y1 и чувствительной линии Bg-S-НИИД, что выразилось в величине КСД (2,9). Предобработка ДЭМ остальных линий тараканов не привела к выраженным сдвигам их чувствительности к хлорпирифосу.

Увеличение токсичности хлорпирифоса за счет предобработки тараканов верапамилом зарегистрировано только у линии Bg-S-НИИД (КСД 2,9), у резистентных линий тараканов КСД варьировал от 1,2 до 1,3 (табл. 2).

Пропоксур. Тараканы всех изученных мультитрезистентных линий были чувствительными или слабо толерантными к пропоксуру. Показатель резистентности к этому карбамату у тараканов линии Bg-ОБН был равен $0.7\times$, Bg-Y1 - $0.8\times$, Bg-M1 - $1.8\times$ (табл.1).

Как и в случае хлорпирифоса, самые высокие значения КСД наблюдали для пропоксура и ТБТФ (табл. 3). Максимально синергизм был выражен у насекомых линии Bg-Y1 (КСД 8,0), в меньшей степени – у линии

Bg-M1 (КСД 4,3). Увеличение чувствительности к пропоксуру при его десинхронизированном нанесении с ТБТФ у тараканов лабораторной культуры и мультirezистентной линии Bg-ОБН было сопоставимым (2,4 и 2,5, соответственно).

Увеличению чувствительности *B. germanica* к пропоксуру при предобработке насекомых ППБ было достигнуто только у линии Bg-M1 (КСД 3,0) и было сопоставимо с таковым лабораторной культуры Bg-S-НИИД (КСД 2,9). Во всех остальных случаях применение ППБ увеличило чувствительность тараканов к пропоксуру в меньшей степени, чем у лабораторной культуры Bg-S-НИИД. У тараканов линии Bg-Y1 КСД для ППБ и проксура был равен 1.5 (vs 2.9 Bg-S-НИИД). Для тараканов линии Bg-ОБН ППБ не только не оказал влияния на чувствительность насекомых к пропоксуру, но и проявил антагонистическое действие (КСД 0.7). ДЭМ не оказал выраженного влияния на чувствительность резистентных тараканов к пропоксуру (табл. 3).

Увеличение токсичности пропоксура за счет предобработки тараканов верапамилом зарегистрировано у линии Bg-S-НИИД (КСД 1,8), Bg-M1 (КСД 2,0), Bg-Y1 (КСД 2,9) и не показано для линии Bg-ОБН (КСД 0,9) (табл. 3).

Обсуждение

Данные литературы по механизмам резистентности *B. germanica* к инсектицидам свидетельствуют о том, что в формировании резистентного фенотипа могут участвовать несколько механизмов одновременно, что приводит к появлению мультirezистентных особей, нечувствительных сразу к несколькими группам применяемых инсектицидов [14, 17, 18]. Изученные линии тараканов из разных городов России были мультirezистентны к разным группам химических веществ. Они проявили высокую резистентность к пиретроидам и фипронилю, среднюю резистентность к хлорпирифосу, чувствительность или слабую толерантность к пропоксуру. Резистентные к пиретроидам, ФОС, но чувствительные к карбаматам популяции *B. germanica* обнаружены и в дру-

Таблица 3. Влияние ингибиторов ферментных систем и верапамила на чувствительность рыжих тараканов к пропоксуру

Линия (ПР)	ДВ / синергист	СК ₅₀ , % ±SE	χ ² (df)	КСД по СК ₅₀
Bg-S-НИИД	Пропоксур	0,029±0.003	1,64 (4)	-
	Пр+ ППБ	0,010±0.001	2,52 (5)	2,9
	Пр + ТБТФ	0,012±0.001	0,24 (3)	2,4
	Пр + ДЭМ	0,017±0.002	0,10 (3)	1,7
	Пр + ВЕР	0,017±0.002	2,89 (5)	1,8
Bg-M1 (1,8×)	Пропоксур	0,051±0.005	4,81 (5)	-
	Пр+ ППБ	0,016±0.003	0,23 (4)	3,2
	Пр + ТБТФ	0,012±0.001	0,02 (3)	4,3
	Пр + ДЭМ	0,047±0.005	1,02 (3)	1,1
	Пр + ВЕР	0,026±0.004	1,39 (5)	2,0
Bg-ОБН (0.7×)	Пропоксур	0,020±0.004	0,09 (5)	-
	Пр+ ППБ	0,028±0.004	0,34 (5)	0,7
	Пр + ТБТФ	0,008±0.001	0,03 (3)	2,5
	Пр + ДЭМ	0,018±0.004	0.24 (6)	1,1
	Пр + ВЕР	0,023±0.003	2,49 (6)	0,9
Bg-Y1 (0.8×)	Пропоксур	0,024±0.003	0,69 (5)	-
	Пр+ ППБ	0,016±0.003	0,23 (4)	1.5
	Пр + ТБТФ	0,003±0.001	0,06 (7)	8,0
	Пр + ДЭМ	0,029±0.003	0,09 (4)	0.8
	Пр + ВЕР	0,008±0.001	0,01 (5)	2,9

Обозначения как в табл.2.

гих странах. Так, в США при исследовании аналогичным методом (топикальное нанесение микрокапель инсектицида на самцов тараканов) чувствительности шести городских популяций рыжих тараканов к инсектицидам наиболее высокий уровень резистентности отмечен к пиретроидам (30-50×), низкая резистентность (толерантность) к хлорпирифосу – (6.4×), чувствительность к пропоксуру [19].

Инсектициды из группы ФОС и карбаматов инактивируют фермент ацетилхолинэстеразу (АХЭ), катализирующий гидролиз нейромедиатора ацетилхолина (АХ). Ингибирование АХЭ и родственных эстераз, часто называемых серин-гидролазами, является результатом химической реакции между ферментом и эфирами ФОС или карбатами. Фосфорилированный или карбамоилированный фермент не способен осуществлять гидролиз АХ, что приводит к накоплению нейромедиатора в нервном синапсе [20]. Многие инсектициды из группы ФОС представляют собой тио- или дитиофосфаты ($P=S$), т.к. они обладают большей стабильностью, чем их оксоны ($P=O$). Группа $P=S$ в тканях насекомого при окислительном десульфуривании превращается в биологически активный оксон (малатион→малаоксон, паратион→параоксон). Затем в результате эстеразного гидролиза происходит разрыв связи ароматического кольца и кислорода с образованием соединения, содержащего кислород. Эстеразный гидролиз на первом этапе (до образования оксона) приводит к разрыву связи ароматического кольца и кислорода с образованием соединения, содержащего серу. Деметилирование $-OCH_3$ -группы до $-OH$ и $P-O$ -арильного расщепления играет важную роль в метаболизме ФОС, например, фенитроциона [21]. Установлено, что у резистентных к хлорпирифосу (20×) рыжих тараканов хлорпирифос-оксон присутствовал в меньших количествах, чем у чувствительной лабораторной культуры, одновременно установлены повышенные уровни продукта его гидролиза - 3,5,6-трихлорпиридинола [22].

Чувствительность к ФОС и карбатам у тараканов мультирезистентных линий увеличивалась при применении ингибитора

эстераз ТБТФ: к хлорпирифосу в 38-146, к пропоксуру – в 2,5-8,0 раз. Подобные результаты исследований, указывающие на увеличение активности эстераз у резистентных к хлорпирифосу тараканов, получены в Сингапуре [9]. Корреляции КСД и показателя резистентности к хлорпирифосу не наблюдали. Значения КСД для ТБТФ и пропоксура сопоставимы с данными литературы [23].

Полученные результаты свидетельствуют, что гидролиз ФОС и производных карбаминовой кислоты является основным способом детоксикации этих группы инсектицидов. В случае с хлорпирифосом имеющаяся в молекуле группа $P=S$ в тканях насекомого сначала превращается в биологически активный оксон (хлорпирифос → хлорпирифос-оксон), а затем вступает в силу эстеразный гидролиз, подавление которого с помощью ингибитора ТБТФ приводит к увеличению инсектицидности в десятки раз.

Пиперонилбутоксид (ППБ) - ингибитор МО - оказывал значительно меньшее влияние на чувствительность тараканов к хлорпирифосу. Вклад GST оказался значительным только у линии Bg-Y1 (КСД 2,9), а у линий Bg-ОБН и Bg-M1 не выявлен. Корреляции величин КСД с чувствительностью тараканов к ФОС и карбатам нами не выявлено. В литературе приведены сведения о вовлечении у рыжих тараканов в механизм резистентности к хлорпирифосу цитохром-Р450-зависимых МО [24, 25]. Так, толерантность *B. germanica* к дихлорвосу (ДДВФ) снижалась в 1.1-2.7 раза при применении ППБ [26]. Вместе с тем, по другим сведениям, ППБ может взаимодействовать антагонистически с хлорпирифосом, снижая чувствительность к нему у насекомых. Поскольку ФОС активируются в организме насекомого за счет окисления, их токсичность может снижаться при сочетании с ингибиторами МО [27, 28]. Так, слабый антагонизм между ППБ и хлорпирифосом (КСД менее 1,0) выявлен также у колорадского жука [29].

Ингибитор АВС-транспортёров верапамил проявил синергизм с хлорпирифосом для чувствительной расы тараканов в

большей степени, чем для резистентных линий Bg-M1, Bg-ОБН и Bg-Y1 (КСД 2.9 vs 1.2-1.3). Однако в литературе есть и другие данные - нанесение сублетальных доз 1 мМ верапамила за 24 часа до топиального нанесения хлорпирифоса повышало его токсичность для *B. germanica* чувствительной линии в два раза, а резистентной к хлорпирифосу линии - в 7,2 раза [13].

Ингибирование АХЭ производными карбаминовой кислоты и ФОС происходит одинаковым образом. Однако в отличие от эфира ФОС, действие карбаматов обратимо: карбамоилированный (ингибированный) фермент спонтанно распадается на активный фермент, метиламин и диоксид углерода [20].

Основной путь метаболизма карбаматов у животных является по своей природе окислительным и связан обычно с МО. Типичные реакции оксигенации, в которых атом кислорода вводится в молекулу, включают гидроксилирование ароматических колец, О-деалкилирование простых эфиров, N-метилгидроксилирование и деметилирование, окисление алифатических боковых цепей и окисление тиоэфира. В некоторых случаях, например метаболизм алдикарба в его сульфоксид, считается реакцией активации, так как сульфоксид алдикарба примерно в 10 раз более эффективен как антихолинэстеразный агент по сравнению с самим алдикарбом [20]. Поскольку метаболизм фенилметилкарбаматов в основном осуществляется МО, наиболее эффективным синергистом должен быть ППБ [27].

Согласно данным литературы толерантность рыжих тараканов к пропоксуру снижалась при применении ППБ в 1,1-2,7 раза [26]. ППБ повышал чувствительность рыжих тараканов к бендиокарбу в 1.3-3.6 раза, и карбарилу в 1.1-1.5 раза [30], к пропоксуру - в 2 раза [23]. Эти данные указывают на участие МО в формировании толерантности к изученным карбаматам. В то же время ППБ не устраняет резистентность, что указывает на наличие других механизмов резистентности, таких как снижение проницаемости кутикулы для инсектицидов и нечувствительность ацетилхолинэстеразы [31]. Со-

гласно нашим данным наиболее активным синергистом пропоксура оказался ТБТФ, однако величины КСД были значительно меньшими, чем в случае с хлорпирифосом. КСД для пропоксура на фоне предобработки ТБТФ были максимальными у расы Bg-Y1 (8,0), средними у Bg-M1 (4,3) и минимальными у Bg-ОБН и Bg-S-НИИД (2,5). Сопоставимые данные получены в Мексике, где ТБТФ увеличил чувствительность тараканов к пропоксуру в 6,8 раза, что подразумевает гидролиз в качестве основного способа детоксикации этого инсектицида [23].

Вклад эстераз в резистентность к карбамату пропоксуру зарегистрирован также во всех 22 изученных популяциях рыжих тараканов в Сингапуре [9]. Таким образом, у большинства из резистентных к карбаматам популяций *B. germanica* устойчивость к бендиокарбу и карбарилу полностью подавлялась ТБТФ, что указывает на высокую роль эстераз в механизме устойчивости.

В ряде работ резистентность к ФОС (в том числе к хлорпирифосу) и к карбаматам, связывают с мутациями АХЭ, что делает невозможным связывание инсектицида и АХ. Показано это на примере высокорезистентных популяций вредителей сельского хозяйства – цикадках, тлях, белокрылках [32, 33]. У рыжего таракана устойчивая АХЭ встречается достаточно редко - частоты резистентных аллелей генов нечувствительной к ФОС и карбаматам АХЭ составляют 0,03-0,08 [14]. Известно, что у *B. germanica* имеются две формы - АХЭ1 и АХЭ2, являющиеся мишенями для ФОС и кодируемые генами *ace1* и *ace2*, тогда как селективной мишенью для карбаматов является только АХЭ1 [34]. В проведенных нами экспериментах резкое увеличение чувствительности насекомых к ФОС за счет действия ингибитора эстераз ТБТФ позволяет предположить только наличие так называемой «метаболической резистентности».

Увеличение чувствительности к пропоксуру линий Bg-Y1 и Bg-M1 при использовании верапамила косвенно указывает на вовлеченность АВС-транспортеров в формирование резистентности у этих линий тараканов.

Заключение

В географически разобщенных популяциях *B. germanica* (из Москвы, Екатеринбурга и Обнинска) формирование резистентности шло в зависимости от истории конкретной популяции под действием инсектицидного пресса: различались группы используемых инсектицидов, частота их применения и т.д.

Проведенные исследования показали, что основной механизм формирования резистентности к ФОС хлорпирифосу шло за счет увеличения активности ферментных систем, участвующих в детоксикации ксенобиотиков, в первую очередь, неспецифических эстераз. Вклад монооксигеназ был выражен значительно слабее, а GST практически не были вовлечены в механизм резистентности. В наибольшей степени «метаболическая» резистентность проявлялась у линии тараканов из Екатеринбурга (Bg-Y1), для которых установлены наиболее высокие значения КСД хлорпирифоса и проопсура с ингибиторами различных систем детоксикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жуужиков Д.П. Чем опасны тараканы. Компания Спутник Москва, 2005. 95 с.
2. Yusof A.M. Identification of cockroaches as mechanical vector for parasitic infections and Обозначения как в табл.2. and infestations in Kuantan, Malaysia // J. of Entomol. 2018. V.15. Iss. 3 P. 143-148.
3. Fardisi M., Gondhalekar A.D., Scharf M.E. Development of diagnostic insecticide concentrations and assessment of insecticide susceptibility in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) field strains collected from public housing // J. Econ. Entomol. 2017. V. 110. № 3. P. 1210-1217.
4. Рославцева С.А. Резистентность к инсектоакарицидам членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение. М.:Компания Спутник+. 2006. – 130 с.
5. Gondhalekar A.D., Scherer W., Saran R.K., Scharf M.E. Implementation of an indoxacarb susceptibility monitoring program using field-collected German cockroach isolates from the United States // J. Econ. Entomol. 2013. V. 106. P. 945–953.
6. Ko A.E., Bieman D.N., Schal C., Silverman J. Insecticide resistance and diminished secondary kill performance of bait formulations against German cockroaches // Pest Manag. Sci. 2016. V. 72. P. 1778–1784.
7. Naqqash M.N., Gökçe A., Bakhsh A., Salim M. Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests // Parasitol. Res. 2016. P. 1–11.
8. Arthropod resistant to pesticides database (ARPD). Available online: <http://www.pesticideresistance.org> (accessed October 19, 2019).
9. 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.
10. Mullins D.E. Physiology of environmental adaptations and resource acquisition in cockroaches // Annu. Rev. Entomol. 2015. V. 60. P. 473-492.
11. Yu S.J. The toxicology and biochemistry of insecticides. Taylor and Francis Group, LLC, 2008. - 276 p.
12. Casida J.E., Durkin K.A. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects // Annu. Rev. Entomol. 2013. V. 58. P. 99–117.
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. 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.
15. Ерёмина, О.Ю. Олифер В.В., Ибрагимхалилова И.В., Геворкян И.С. Исследование резистентности рыжих тараканов к фосфорорганическим инсектицидам и карбаматам // Дез. дело. 2017. № 1. С. 45-52.
16. 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.
17. 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.
18. Julio A.H., Giglioli A.A., Cardoso K.A., Drosdoski S.D., Kulza R.A., Seixas F.A., Ruvolo

- Takasusuki M.C., de Souza C.G., Lapenta A.S. Multiple resistance to pirimiphos-methyl and bifenthrin in *Tribolium castaneum* involves the activity of lipases, esterases, and laccase2 // Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol. 2017. V. 195. P. 27-43.
19. Wu X., Appel A.G. Insecticide resistance of several field-collected German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) strains // J. Econ. Entomol. 2017. V. 110. № 3. P. 1203-1209.
20. Fukuto T.R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides // Environ // Health Perspect. 1990. V. 87. P. 245-254.
21. Sundaram K.M.S. Cuticular penetration and in vivo metabolism of fenitrothion in spruce budworm // J. Environ. Sci. Health. 1988. B23. № 6, P. 643-659.
22. Blair D.S., Scott J.G., Roush R.T., Zeichner B.C. Biochemistry and genetics of chlorpyrifos resistance in the German cockroach, *Blattella germanica* (L.) // Pestic. Biochem. Physiol. 1990. V. 38, Iss. 2, P. 110-121.
23. Sanchez-Arroyo H., Koehler P.G., Valles S.M. Effects of the synergists piperonyl butoxide and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate on propoxur pharmacokinetics in *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae) // J. Econ. Entomol. 2001. V. 94. №5. P. 1209-1216.
24. Siegfried B.D., Scott J.G. Insecticide resistance mechanisms in the German cockroach, *Blattella germanica* (L.) // ACS Symp. Ser. 1992. V. 505. Molecular mechanisms of insecticide resistance. Ch. 18. P. 218-230.
25. Mokbell El-S. M.S., Swelam E.S.H., Radwan E.M.M., Abd-E.Kandil M. Role of metabolic enzymes in resistance to chlorpyrifos-methyl in the cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Koch) // J. of Plant Prot. Res. V.57. №3, 2017. P. 276-280.
26. Qian K., Wei X.Q., Zeng X.P., Liu T., Gao X.W. Stage-dependent tolerance of the German cockroach, *Blattella germanica* for dichlorvos and propoxur // J. Insect Sci. 2010. V.10. P. 201.
27. Wilkinson C.F. Effects of synergists on the metabolism and toxicity of anticholinesterases // Bull. World Health Organ. 1971. V. 44. № 1-3. P. 171-190.
28. Demkovich M., Dana C.E., Siegel J.P., Berenbaum M.R. Effect of piperonyl butoxide on the toxicity of four classes of insecticides to navel orangeworm (*Amyelois transitella*) (Lepidoptera: Pyralidae) // J. Econ. Entomol. 2015. V. 108. № 6. P. 2753-2760.
29. Węgorzek P., Zamojska J., Mrówczyński M. Susceptibility level of the colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) to chlorpyrifos and acetamiprid in Poland and resistance mechanisms of the pest to chlorpyrifos // J. Plant Protect. Res. 2011. V. 51, Iss. 3. P.1427-4345.
30. Salehi A., Vatandoost H., Hazratian T., Sanei-Dehkordi A., Hooshyar H., Arbabi M., Salim-Abadi Y., Sharafati-Chaleshtori R., Gorouhi M.A., Paksa A. Detection of bendiocarb and carbaryl resistance mechanisms among German cockroach *Blattella germanica* (Blattaria: Blattellidae) collected from Tabriz hospitals, East Azerbaijan Province, Iran in 2013 // J. Arthropod Borne. Dis. 2016. V.10. №3. P. 403-412.
31. Dehkordi A.S., Abadi Y.S., Nasirian H., Hazratian T., Gorouhi M.A., Yousefi S., Paksa A. Synergists action of piperonyl butoxide and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate on toxicity of carbamate insecticides against *Blattella germanica* // Asian Pacific J. Trop. Med. 2017 V. 10. № 10. P. 981-986.
32. Zhang Y., Yang B., Li J., Liu M., Liu Z. Point mutations in acetylcholinesterase 1 associated with chlorpyrifos resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. // Insect. Mol. Biol. 2017. V. 26. № 4. P. 453-460.
33. Lokeshwari D., Krishna Kumar N.K., Manjunatha H. Multiple mutations on the second acetylcholinesterase gene associated with dimethoate resistance in the melon aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) // J. Econ. Entomol. 2016. V. 109. № 2. P. 887-897.
34. Meng X., Li C., Bao H., Fang J., Liu Z., Zhang Y. Validating the importance of two acetylcholinesterases in insecticide sensitivities by RNAi in *Pardosa pseudoannulata*, an important predatory enemy against several insect pests // Pestic. Biochem. Physiol. 2015. V.125. P. 26-30

Поступила 15.10.19