

А.А.Смирнов (ВНИИВСГЭ)

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СИСТЕМ В МЕХАНИЗМЕ УСТОЙЧИВОСТИ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ К НЕКОТОРЫМ ПРЕПАРАТАМ

Введение

Механизм резистентности членистоногих к инсектоакарицидам многокомпонентен, и в каждом конкретном случае реализуется один из его вариантов.

Основными компонентами механизма устойчивости являются: изменение проницаемости покровов членистоногих за счет увеличения воскополиоидного слоя кутикулы; поведенческая устойчивость (избегание контакта с обработанной препаратом поверхностью); увеличение активности ферментов, принимающих участие в детоксикации инсектоакарицидов и изменение чувствительности мишени для токсических веществ [1].

Биохимические механизмы резистентности к инсектоакарицидам связаны с изменением токсикодинамических процессов в организме, то есть с различиями в чувствительности биологических систем — объектов их первичного молекулярного действия. Инсектициды, вступая во взаимодействие с ферментными системами, вызывают нарушение транспорта ионов через мембраны нервных клеток [2].

Известны два основных механизма в этом сложном комплексе: во-первых, изменение структуры, а соответственно чувствительности мишени, на которую действует инсектоакарицид; во-вторых, усиление процессов детоксикации путем активации определенных ферментных систем: в основном монооксигеназ (МО), глутатион-S-трансфераз (GSTФ) и неспецифических эстераз [3].

Микросомальные монооксигеназы (МО) являются одной из наиболее важных ферментных систем, определяющих развитие резистентности насекомых к инсектоакарицидам. Вследствие того, что МО катализируют протекание множества реакций и характеризуются широкой субстратной специфичностью, они принимают участие в метаболизме ФОС, карбаматов, хлороорганических соединений и пиретроидов, а также обуславливают возникновение перекрестной резистентности [4].

В общем виде схема детоксикации соединений при участии МО включает в себя две ступени: во-первых, реакции, направленные на модификацию молекулы с целью придания ей большей полярности и химической активности; во-вторых, после-

дующее связывание продуктов первичной детоксикации с сахарами, аминокислотами или солями в форму, в которой они впоследствии выводятся из организма [1].

Глутатион-S-трансферазы катализируют конъюгацию глутатиона с различными ксенобиотиками, включая инсектициды. Конъюгаты затем метаболизируются до меркаптурановой кислоты и выводятся из организма насекомого [5].

Функции комплекса эстераз недостаточно изучены, хотя известно, что эти ферменты у членистоногих осуществляют энергетически важный катаболизм эфиров высших жирных кислот, обеспечивающий мобилизацию липидов, в том числе жиров в жировом теле; деградацию метаболических инертных эфиров, в том числе и разнообразных ксенобиотиков; синтез и отчасти транспорт кутикулярных восков, и наконец, контроль титра гормонов, например, ювенильного [6].

Эстеразы относятся к классу гидролаз (3), подклассу гидролаз сложных эфиров (3.1) и подподклассу гидролаз эфиров карбоновых кислот (1.3.1.). Среди эстераз различных тканей идентифицированы следующие ферменты: карбоксилэстераза, алиэстераза и арилэстераза, которые объединены в группу неспецифических эстераз, а также ацетилэстераза, ацетилхолинэстераза и холинэстераза. Такая классификация эстераз, отражающая их широкую специфичность, используется большинством авторов [7].

В литературе немало примеров, показывающих участие перечисленных выше ферментативных систем в детоксикации пестицидов, приведем несколько таких примеров. Так, резистентность комнатных мух к пиретроидам в ряде случаев связана с увеличением активности неспецифических эстераз, которая сопровождается возрастанием резистентности мух к перметрину. Эти эстеразы широко распространены в природных популяциях мух в Великобритании, Франции, Бельгии и Швеции [8]. С повышенной активностью неспецифических эстераз (карбоксилэстеразы) связывают механизм устойчивости к пиретроидам популяции *Culex* с Кубы [9]. Механизм резистентности к перметрину у рыжих тараканов определяется также увеличением активности карбоксилэстеразы [10].

В последние годы получены новые данные об увеличении активности микросомальных монооксигеназ (МО) у резистентных к пиретроидам насекомых, в частности колорадского жука [11], комнатных мух [7] и др.

Ряд авторов [12], применяя токсикологические методы с использованием ингибиторов ферментов детоксикации, делает вывод, что в детоксикации пиретроидов у колорадского жука активное участие принимают одновременно неспецифические эстеразы и микросомальные монооксигеназы, причем последним принадлежит ведущая роль.

С.А. Рославцевой и др. [8] биохимическим методом показан значительный вклад в механизм резистентности к пиретроидам природных популяций комнатных мух глутатион-S-трансферазы. Эта же ферментативная система принимала участие в детоксикации хлор- и фосфорорганических соединений [11].

Материалы и методы

Для выявления механизмов резистентности членистоногих к инсектицидам применяются два подхода. Один из них заключается в определении активности основных систем детоксикации биохимическими методами *in vitro*. Другой включает в себя токсикологические методы, то есть проведение опытов с использованием соединений (синергистов), которые, проникая в организм насекомых, специфически тормозят активность ферментов детоксикации и в сочетании с инсектицидом увеличивают его токсическое действие.

В наших экспериментах мы использовали токсикологический метод. В качестве ингибитора микросомальных монооксигеназ применяли пиперонилбутоксид (ППБ), неспецифических эстераз — бутифос (S, S, трибутилтретиофосфат), глутатион-S-трансферазы — диэтилмалеат (ДЭМ).

В опытах использовали голодных имаго иксодовых клещей *H. marginatum*. По

литературным данным [13], предварительная аппликация ингибиторов усиливает их синергическое действие, поэтому мы препараты наносили топикально на клещей через 1 ч после аппликации ингибиторов. Опыты проводили с клещами, селективируемыми на протяжении 12 поколений фипронилом, суминаком и их смесью — Дана. В 12-м поколении показатель резистентности клещей к суминаку составил 15,5; к фипронилу — 8,2, а к смесевому препарату Дана — 2,1. Результаты опытов представлены в таблице 1.

Результаты исследований

Из таблицы 1 видно, что фипронил больший синергизм проявил с ДЭМ, чем с ППБ, коэффициенты синергизма соответственно равны 4,2 и 2,1. Отсюда следует вывод о большей роли глутатион-S-трансферазы в метаболизме фипронила по сравнению с микросомальными монооксигеназами. Неспецифические эстеразы вообще не принимают участие в детоксикации этого препарата. Коэффициент синергизма бутифоса равен 0,7.

В метаболизме суминака принимают участие 2 ферментативные системы: микросомальные монооксигеназы и неспецифические эстеразы. Причем, синергическое действие ППБ было в 1,6 раза выше, чем действие бутифоса, что говорит о большем вкладе микросомальных монооксигеназ в процессе детоксикации суминака по сравнению с неспецифическими эстеразами. Суминак, как видно из таблицы 1, не показал синергизма с ингибитором глутатион-S-трансферазы, что свидетельствует о непричастности этой ферментативной системы в метаболизме суминака.

Что касается препарата Дана, то в наших исследованиях лишь ППБ немного повышал его токсичность, КС=1,6, а бутифос и ДЭМ практически не проявляли синергизма. Отсутствие синергизма с бутифосом и ДЭМ свидетельствует о непричастности неспецифических эстераз и глутати-

Таблица 1

Влияние ингибиторов ферментов детоксикации на токсичность препаратов для имаго иксодовых клещей *H. marginatum*

Препарат	СД, мкг/особь (в скобках — доверительные пределы)				Коэффициент синергизма		
	без синергиста	препарат + ППБ 1:10	препарат + бутифос 1:1	препарат + ДЭМ 1:1	ППБ	бутифос	ДЭМ
Фипронил	0,124 (0,103–0,15)	0,06 (0,046–0,078)	0,18 (0,15–0,21)	0,029 (0,022–0,038)	2,1	0,7	4,2
Суминак	0,0023 (0,0017–0,0019)	0,000046 (0,00035–0,0006)	0,0007 (0,00053–0,0009)	0,0025 (0,0021–0,003)	4,9	3,1	0,9
Дана (суминак + фипронил)	0,00042 (0,00032–0,00054)	0,00023 (0,00018–0,0003)	0,00035 (0,00027–0,00045)	0,00046 (0,00035–0,0006)	1,8	1,2	0,9

он-s-трансфераз к детоксикации препарата Дана у иксодовых клещей.

Однако следует заметить, что показатель резистентности иксодид в 12-м поколении к препарату Дана составил всего 2,1, то есть на данном уровне устойчивости все названные ферментативные системы, за исключением монооксигеназ, не принимают участие в метаболизме смесового препарата.

РЕЗЮМЕ

Токсикологическими методами установлено, в детоксикации суминака ведущая роль принадлежит микросомальным монооксигеназам, в детоксикации фипронила-глутатион-s-трансферазам. В метаболизме смесового препарата Дана принимают участие микросомальные монооксигеназы.

Литература

1. Перегуда Т.А. Механизмы устойчивости членистоногих к пиретроидам // *Агрохимия*. 1985. № 8. С. 123–131.
2. Сундуков О.В. Резистентность вредителей сельскохозяйственных культур к пестицидам // *Тр. ВИЗР, М.: Агропромиздат*, 1991. С. 59–64.
3. Dary O., Giorghiou G.P., Parsons F. Dot-beot test for identification of insecticide-resistance acetylcholinesterase in single insects // *J. Econ. Entomol.* 1991, V. 84, № 1. P. 28–32.
4. Леонов И.Н., Слынько Н.М. Применение токсикологических методов в изучении механизмов резистентности к инсектицидам у насекомых // *Агрохимия*. 1988. № 8. С. 130–140.
5. Амиранов Д.В., Соколянская М.П. Активность ферментов детоксикации на начальной стадии формирования резистентности к инсектицидам у комнатной мухи // *Агрохимия*. 1992. № 10. С. 115–120.
6. Ahmad S. Larval and adult hofesky carboxylesterase: isozyme composition and tissue pattern / *Insect. Biochem.* 1976. V. 6. P. 661–668.
7. Рославцева С.А., Баканова Е.И., Еремينا О.Ю. Эстеразы членистоногих и их роль в механизмах детоксикации инсектоакарицидов // *Агрохимия*. 1993. № 3. С. 168–173.
8. Рославцева С.А. и др. Исследование механизмов резистентности насекомых к инсектицидам (на примере природных популяций комнатных мух *Musca domestica*) // *Агрохимия*. 1998, № 10. С. 14–23.
9. Bisset I.A., Rodriguez M.M., Hemingway I. Maktion and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* from Cuba: efficacy of pirimiphos — methyl in the presence of at least three resistance mechanisms // *Med. Vet. Entomol.* 1991, № 2. P. 223–227.
10. El-Bashier N.H., Chowdes L.A. Mechanism of permethrin tolerance in the common green lacewing (*Neuroptera: Chrysopidae*) // *Econ. Entomol.*, 1983, V. 3, № 3. P. 407–410.
11. Поскрывков А.В., Амиранов Д.В. Влияние ингибиторов ферментов детоксикации на активность инсектицидов из разных химических классов в отношении личинок II и IV возраста колорадского жука // *Агрохимия*. 1993. № 3. С. 120–125.
12. Неделькина С.В., Соломенникова И.В., Перегуда Т.А. Применение оптимальных доз ингибиторов ферментов детоксикации для исследования метаболизма перметрина у колорадского жука // *Агрохимия*. 1988. № 5. С. 107–110.

**И.А. Архипов, М.Б. Мусаев, Н.И. Кошеваров,
К.Л. Мальцев, Д.Н. Шемяков, Н.И. Кидяев**

(ВНИИ гельминтологии им. К.И. Скрябина, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Ельнинская станция по борьбе с болезнями животных Республики Мордовия)

ОПТИМАЛЬНЫЕ СРОКИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ПАРАЗИТАРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Паразитарные заболевания крупного рогатого скота широко распространены в России. Паразиты оказывают патогенное воздействие на организм животных, что приводит к значительным экономическим потерям в животноводстве за счет снижения продуктивности и нередкого падежа животных.

По данным Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина, эко-

Таким образом, токсикологическим методом установлено, что в метаболизме суминака ведущая роль принадлежит микросомальным монооксигеназам, а в метаболизме фипронила — глутатион-s-трансферазам. В детоксикации препарата Дана принимают участие микросомальные монооксигеназы, но на данном невысоком уровне резистентности иксодид к этому препарату активность ферментов минимальная.

номический ущерб при фасцилезе крупного рогатого скота складывается из снижения молочной продуктивности коров на 10–20%, снижения прироста массы молодняка на 5–15%, утилизации пораженной печени на 3,2 кг, снижения качества мяса на 100–300 ккал/кг.

Значительный ущерб причиняет и диктиокаулез из-за снижения привесов на 27%