

© О. В. Сундуков, И. А. Тулаева,
Е. А. Зубанов

Всероссийский НИИ защиты
растений, Санкт-Петербург

Дизруптивным отбором при инбредном разведении проведена селекция обыкновенного паутиного клеща на устойчивость к четырем инсектоакарицидам — диметоату, бифентрину, абамектину и бромпропилату. Показатели резистентности (ПР) клещей в семьях полученных линий определены, соответственно, 1000, 2600, 2000 и 2000-кратными. Распределение по уровню смертности семей потомства (F_1) при скрещивании клещей резистентной и чувствительной линий и при возвратном анализирующем скрещивании (F_2) показало, что наследование признака резистентности к диметоату является моногенным и доминантным, к абамектину — дигенным и доминантным, а к бифентрину и бромпропилату — дигенным и не полностью рецессивным. Полученные показатели перекрестной резистентности к акарицидам различных химических классов свидетельствовали о наличии в геноме отселектированных линий клещей мутаций, обуславливающих их устойчивость к этим токсикантам.

✿ **Ключевые слова:** паутиный клещ; резистентность; инсектоакарициды; наследование признака; карбоксилэстераза.

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АКАРИЦИДАМ В ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЯХ ОБЫКНОВЕННОГО ПАУТИННОГО КЛЕЩА

ВВЕДЕНИЕ

Формирование у членистоногих резистентности к инсектоакарицидам связано с отбором из популяции особей, у которых модифицирована чувствительность биохимических мишеней токсиканта или произошли точечные мутации в аллелях, контролирующих течение физиологических процессов противодействия отравлению. По существующим представлениям каждый из функционирующих биохимических механизмов резистентности генетически детерминируется независимо. Если в геноме членистоногих имеется несколько механизмов резистентности, то они проявляют своё действие аддитивно. Сведения о наличии таких механизмов у членистоногих весьма значимы для практического применения химических средств защиты растений, поскольку чередование токсикантов неродственных химических групп часто осуществляется как профилактическое мероприятие, затрудняющее формирование резистентной популяции вредителя к пестициду какой-либо одной химической группы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проводившихся экспериментах использовались самки обыкновенного паутиного клеща (*Tetranychus urticae* Koch) полученных нами гомозиготных линий по признакам чувствительности к токсическому действию селективирующих инсектоакарицидов. Дизруптивная селекция проводилась диагностическими концентрациями инсектоакарицидов ($СК_{95} \times 2$ для клещей чувствительной линии) различных химических групп — диметоатом, бифентрином, бромпропилатом и абамектином. Клещи каждой линии разводились посемейно от единичных самок после инбредного скрещивания. Получаемые от самок семьи содержались на листовых плотиках фасоли, уложенных на залитую водой вату в кристаллизаторах, при длиннодневном фотопериодическом режиме.

Резистентные (R) к акарицидам линии клещей являлись потомством самок из семей, выживавших на 90–100 % после обработки диагностической концентрацией селективирующего акарицида. Чувствительные к этому акарициду линии (S) были получены sibселекцией от сестёр самок из семей 100 % погибавших при обработке диагностической концентрацией токсиканта.

Для селекции использовали препаративные формы инсектоакарицидов — диметоата (Би-58 40 % к. э.),* бифентрина (талстар 10 % к. э.), бромпропилата (неорон 50 % к. э.) и абамектина (вертимек 1,8 % к. э.). Для изучения перекрестной резистентности полученных генотипов клещей использовали также малатион (малатион 50 % к. э.), пиридабен (санмайт 20 % с. п.) и феназахин (демитан 20 % к. с.).

Клещей обрабатывали методом окунания кусочков кормового растения с находящимися на них самками в водные растворы различных весовых (в %) концентраций токсикантов. После окунания кусочки листа с клещами раскладывали на чистые листовые плотики. Через первые и третьи сутки подсчитывалось количество выживших особей.

Поступила в редакцию 04.04.2014
Принята к публикации 30.09.2014

* к. э. — концентрат эмульсии; с. п. — смачивающийся порошок; к. с. — концентрат суспензии.

Фракционный состав эстераз у самок клещей сопоставляемых линий определяли методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле с использованием трис-вероналового электродного буфера pH 7,2–7,5. Концентрация акриламида в разделяющем геле составляла 7,5 %. Самок клеща гомогенизировали с 40%-й сахарозой. Фракции эстераз после их электрофоретического разделения выявляли в инкубационной среде с 0,2 М фосфатным буфером pH 6,9, 1-нафтилацетатом в качестве гидролизуемого субстрата и прочным синим RR в качестве красителя (Šula, Weyda, 1983).

При гибридологическом изучении особенностей наследования признака резистентности к акарицидам из исследуемых линий клеща для скрещивания брали готовых к линьке дейтонимф, к которым на отдельные листовые плотки подсаживали по одному самцу. Критерием оценки фенотипического выражения признака резистентности у самок из родительских и гибридных семей служило их распределение по уровням смертности через трое суток после обработки диагностической концентрацией акарицида.

Анализирующее скрещивание (F_a) гибридных самок первого поколения (F_1) проводилось с самцом из чувствительной или резистентной к акарициду родительской линии в зависимости от типа детерминации признака резистентности.

Партеногенетический способ размножения клещей в форме аррентокии исключал возможность получения генотипических комбинаций гетерозиготных гибридов, которые возникают при реципрокном скрещивании, когда оба пола у членистоногих диплоидны. Поэтому реципрокные скрещивания не включались в гибридологический анализ.

Статистическая обработка получаемых токсикологических данных при определении среднелетальных концентраций акарицидов и расчет доверительных интервалов средних арифметических проводили методом пробит-анализа по Литчфильду и Уилкоксона (Беленький, 1959). Графики строили при помощи компьютерной программы Microsoft® Excel 2002. Ошибку частного при определении показателя резистентности (ПР) рассчитывали по Урбаху (1964).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Токсикологическая характеристика отселектированных линий обыкновенного паутиного клеща

Эксперименты проводились с линиями клещей после 70 поколений дизруптивного отбора. Фенотипически они характеризовались по значениям среднелетальных концентраций ($СК_{50}$) токсикантов и показателям резистентности — $СК_{50}$ R-линии/ $СК_{50}$ S-линии (табл. 1). Клещи полученных линий, как ожидалось, должны были быть гомозиготны по наличию или отсутствию признака резистентности к селекционирующим токсикантам. Значения

$СК_{50}$ к акарицидам других химических групп, при определении перекрестной резистентности у отселектированных генотипов, отражали наличие в геноме клещей аллельных модификаций, детерминирующих их устойчивость и к этим токсикантам.

Клещи отселектированной диметоатом линии до 1000-кратного уровня резистентности проявляли перекрестную устойчивость к малатиону и бромпропилату. К остальным акарицидам достоверного (более чем 20-кратного, по существующим оценочным критериям), наличия перекрестной устойчивости не выявлялось.

При селекции клещей бифентрином перекрестная резистентность проявлялась кроме бромпропилата еще и к фосфорорганическим инсектоакарицидам — диметоату и малатиону.

Отселектированные на резистентность к абамектину клещи проявляли перекрестную устойчивость ко всем использованным для сопоставления акарицидам, кроме пиридабена.

При селекции клещей бромпропилатом различные уровни перекрестной устойчивости обнаруживались ко всем токсикантам, включая и пиридабен.

Представления о биохимических механизмах резистентности

У членистоногих, проявляющих резистентность к фосфорорганическим инсектоакарицидам, обнаруживается общее увеличение эстеразной активности. При этом выявляется значительно более высокая, по сравнению с нормой, активность одной из множественных молекулярных форм амфифильной карбоксилэстеразы (гидролазы эфиров карбоновых кислот КФ 3.1.1.1.). В настоящее время это считается специфическим биохимическим механизмом резистентности к фосфорорганической и карбаматной химическим группам инсектоакарицидов. Мутация, детерминирующая у членистоногих данный механизм резистентности, может приводить к увеличению синтеза карбоксилэстеразы двумя способами. Посредством транскрипционного регулирования каталитических свойств фермента вследствие изменения порядка нуклеотидных последовательностей в цепочке ДНК (Cui et al., 2011; Oakeshott et al., 2005) или путем умножения (амплификации) в матрице ДНК отдельного локуса, ответственного за синтез одной из множественных молекулярных форм карбоксилэстеразы (Bass, Field, 2011; Devonshire, Field, 1991; Field, Foster, 2002). Выявляемая электрофоретически фракция этой множественной молекулярной формы фермента может служить биохимическим маркером наличия резистентных к фосфорорганическим соединениям особей в исследуемых популяционных выборках членистоногих. Различия между чувствительными и резистентными к фосфорорганическим соединениям самками клещей

Таблица 1

Токсичность акарицидов ($\times 10^{-3}$) для самок инбредных линий паутиного клеща, отселектированных на наличие или отсутствие признака резистентности

Акарицид	СК ₅₀ S-линии	СК ₅₀ R-линии	ПР
Диметоат	0,05 ± 0,007	50 ± 6	1000 ± 184,4
<i>Селекция диметоатом</i>			
Малатион	0,08 ± 0,01	50 ± 5	625 ± 100,0
Бифентрин	0,002 ± 0,0004	0,02 ± 0,008	10 ± 4,5
Бромпропилат	0,05 ± 0,01	3 ± 0,4	60 ± 14,4
Абамектин	0,35 ± 0,1	3,5 ± 0,5	10 ± 3,2
Пиридабен	0,3 ± 0,04	1 ± 0,3	3,3 ± 1,1
Феназахин	0,4 ± 0,05	2 ± 0,5	5 ± 1,4
<i>Селекция бифентрином</i>			
Бифентрин	0,05 ± 0,01	130 ± 50	2600 ± 1127,1
Диметоат	0,08 ± 0,00002	2 ± 0,5	25 ± 8,8
Малатион	0,05 ± 0,004	3 ± 0,6	50 ± 10,8
Бромпропилат	0,05 ± 0,006	2 ± 0,3	40 ± 7,7
Абамектин	0,0009 ± 0,0003	0,009 ± 0,001	10 ± 3,5
Пиридабен	0,08 ± 0,03	0,9 ± 0,1	10 ± 3,9
Феназахин	0,004 ± 0,002	0,06 ± 0,005	15 ± 7,6
<i>Селекция абамектином</i>			
Абамектин	0,0045 ± 0,0005	9 ± 0,5	2000 ± 248,4
Диметоат	0,5 ± 0,04	50 ± 4	100 ± 11,3
Малатион	0,05 ± 0,002	10 ± 0,06	200 ± 14,4
Бифентрин	0,0002 ± 0,00005	0,04 ± 0,02	200 ± 11,2
Бромпропилат	0,05 ± 0,006	10 ± 3	200 ± 64,6
Пиридабен	0,4 ± 0,05	5 ± 0,2	12,5 ± 1,6
Феназахин	0,01 ± 0,004	0,3 ± 0,06	30 ± 13,4
<i>Селекция бромпропилатом</i>			
Бромпропилат	0,04 ± 0,006	80 ± 3	2000 ± 309,2
Диметоат	0,08 ± 0,01	50 ± 8	375 ± 76,1
Малатион	0,5 ± 0,05	60 ± 5	175 ± 22,8
Бифентрин	0,02 ± 0,003	1 ± 0,7	50 ± 35,8
Абамектин	0,0009 ± 0,0002	0,45 ± 0,05	500 ± 124,2
Пиридабен	0,3 ± 0,05	9 ± 0,2	30 ± 5,0
Феназахин	0,007 ± 0,0002	2 ± 0,8	285 ± 114,3

СК₅₀ в % по действующему веществу; доверительный интервал — $\bar{X} \pm t S\bar{X}$; n = по 10 самок из 15–20 семей в варианте с каждой концентрацией

отселектированных линий показаны на рис. 1. Идентификация выявляемых эстеразных фракций была проведена ранее (Сундуков, 2012).

Резистентность членистоногих к пиретроидным инсектоакарицидам связывается с генной мутацией, вызывающей нарушение транспортных функций ионных каналов плазматической мембраны клеток для катионов натрия, условно называемой «*kdr*-фактором». Результатом воздействия пиретроидных инсектоакарицидов на воротный механизм натриевых каналов являются патологические изменения натрий-калиевой асимметрии в клеточных и межклеточных жидкостях и, как следствие, патологическая модификация электрического потенциала на электрогенных мембранах. Данная мутация

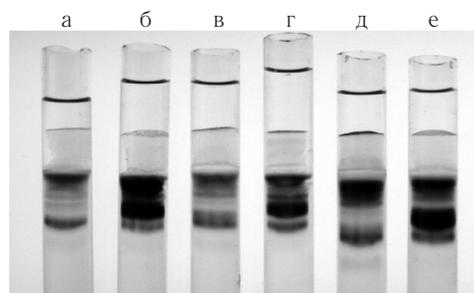


Рис. 1. Состав и активность эстеразных фракций в гомогенате самок отдельных семей обыкновенного паутиного клеща: а — 3♀♀ S-диметоат; б — 3♀♀ R-диметоат; в — 3♀♀ S-малатион; г — 3♀♀ R-малатион; д — 3♀♀ S-бифентрин; е — 3♀♀ R-бифентрин. Гидролизуемый субстрат — 1-нафтилацетат

считается основным биохимическим механизмом резистентности членистоногих к пиретроидным соединениям (Burton et al., 2011; Leeuwen et al. 2010; Soderlund., 2008). Однако известны факты, свидетельствующие об участии также и гена карбоксилэстеразной активности в детерминации признака резистентности у членистоногих к пиретроидным инсектоакарицидам (Gunning et al., 2007; Leeuwen, Tiggy, 2007). Непосредственным доказательством участия этого фермента в проявлении резистентности клещей к бифентрину в наших экспериментах являлось выявление у них высокоактивной фракции множественной молекулярной формы карбоксилэстеразы, также как и у резистентных к диметоату и малатиону особей (рис. 1). Это позволяет заключить, что генетическая детерминация резистентности клещей к пиретроидным инсектоакарицидам может осуществляться кроме основной мутации — по «*kdr*-фактору» также и в результате амплификации локуса ДНК, ответственного за синтез одной из множественных молекулярных форм карбоксилэстеразы. Проявление довольно широкого спектра различий в перекрестной устойчивости к диметоату и малатиону в семьях разных поколений у селектировавшихся на устойчивость к бифентрину клещей могло быть связано с разной степенью амплификации у них локуса ДНК, контролирующего синтез этого фермента.

В семьях отселектированной по признаку чувствительности к бифентрину линии клеща отсутствовали мутации как по гену «*kdr*-фактора», так и по гену, ответственному за увеличение синтеза карбоксилэстеразы. Высокоактивная маркерная фракция этого фермента у чувствительных к бифентрину самок паутиного клеща не выявлялась (рис. 1).

Для макроциклических лактонов — авермектинов и мильбемицинов мишенью первичного токсического

действия считается рецепторно-ионофорный комплекс гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), регулирующий воротный механизм ионных каналов хлора, а также глутаматные, гистаминовые и серотониновые рецепторы (Bloomquist, 2003; Clark et al., 1995; Kwon et al., 2010; Zhao, Salgado, 2010). У обыкновенного паутиного клеща выявлены и охарактеризованы мутантные протеиновые субъединицы глутаматных рецепторов ГАМК, с воздействием токсиканта на которые связывают проявление резистентности к абамектину (Dermauw et al., 2012).

В эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях членистоногих локализована универсальная ферментативная система, осуществляющая окислительное разрушение любых ксенобиотиков. Основным составляющим ее элементом являются цитохром Р450 зависимые монооксигеназы. Увеличение монооксигеназной активности в организме членистоногих за счет усиления транскрипции или генной амплификации обеспечивает значительное повышение уровня резистентности членистоногих, как полагают, ко всем инсектоакарицидам (Bass, Field, 2011; Feysereisen, 2005; Scott, 1999). Проявление резистентности к пиридабену и феназахину связывают с их действием на митохондриальный электронный транспорт в этой системе (Leeuwen et al., 2005; Pottenlberge et al., 2009; Stumpf, Nauen, 2001).

Гибридологический анализ наследования признаков резистентности к акарицидам в отселектированных линиях паутиного клеща

Скрещивание устойчивых к диметоату самок и чувствительных самцов показало, что наследование признака резистентности к фосфорорганическому акарициду у паутиного клеща в поколении F₁ является полностью доминантным (рис. 2).

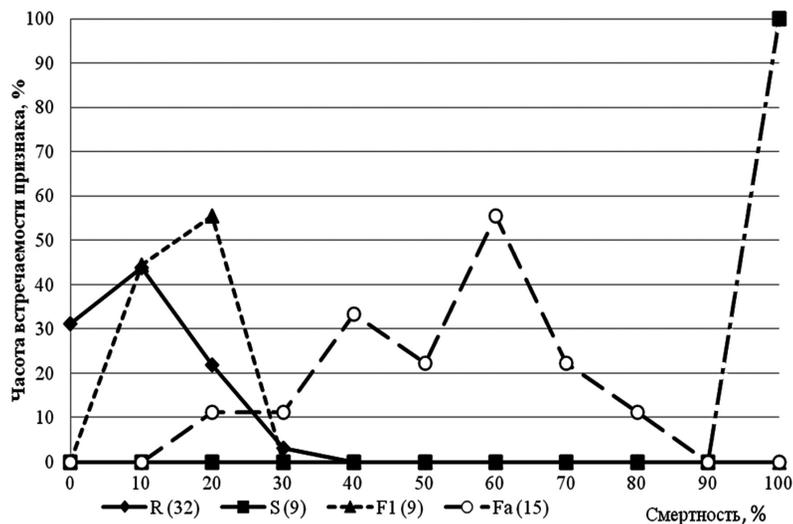


Рис. 2. Распределение семей по уровням смертности самок в родительских чувствительной (S) и резистентной (R) к диметоату линиях, а также гибридов первого (F1) и гибридов возвратного скрещивания (Fa) после обработки дискриминирующей концентрацией диметоата. В скобках указано количество протестированных семей для получения среднестатистических значений

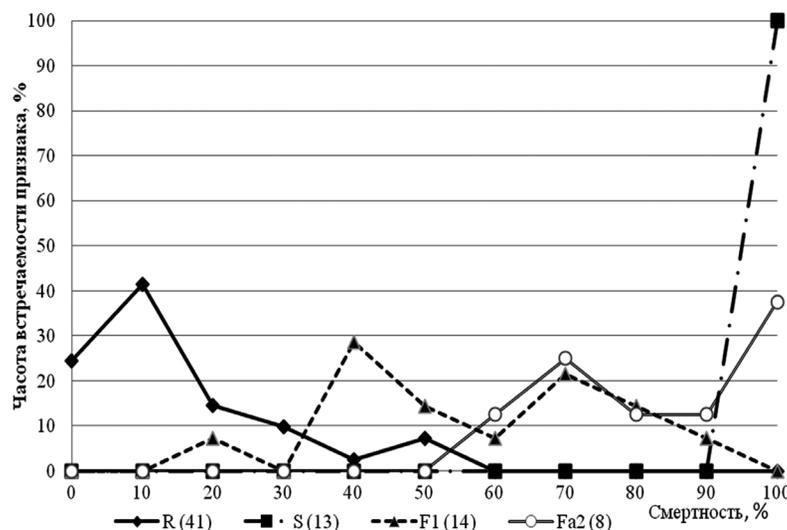


Рис. 3. Распределение семей по уровням смертности самок в чувствительной (S) и резистентной (R) родительских линиях, а также гибридов первого поколения (F1) и гибридов возвратного скрещивания (Fa2) после обработки дискриминирующей концентрацией бифентрина. В скобках указано количество протестированных семей для получения среднестатистических значений

Гибридные самки поколения F_1 составляли только одну группу (Rs) устойчивых к диметоату особей, что свидетельствовало о моногенной детерминации признака резистентности к этому токсиканту у клещей.

Возвратное анализирующее скрещивание гибридных самок из поколения F_1 с самцом чувствительной к диметоату родительской линии давало в получаемом поколении Fa ожидаемое для моногенного наследования признака распределение особей на две группы — резистентных по фенотипу самок (Rs) с уровнем смертности от 20 до 40 % и чувствительных к токсиканту особей (ss) с уровнем смертности от 60 до 80 %.

В отличие от резистентных к диметоату клещей, самки отобраных бифентрином чувствительной и резистентной линий в первом поколении скрещивания (F_1) давали гибриды, которые распределялись после обработки диагностической концентрацией этого токсиканта на две группы с пиками смертности на уровнях 40 и 70 % (рис. 3). Это являлось показателем дигенного наследования признака резистентности. Суммарно, по общему проценту резистентных самок, фенотипическое выражение признака резистентности к бифентрину у гибридов в F_1 оказалось не полностью рецессивным. По литературным данным известно, что признак устойчивости детерминируемый «*kdr*-фактором» — всегда рецессивен (Park et al., 2000; Shono, 1985). Наличие у резистентных к пиретроидному акарициду клещей доминантного гена, амплификация которого увеличивает карбоксилэстеразную активность, модифицировало проявление детерминации основного гена по токсикологическому фенотипу от полной рецессивности к частичной.

При скрещивании самок поколения F_1 с резистентным к бифентрину самцом, гибридные самки нового по-

томства (Fa) при действии диагностической концентрации бифентрина группировались по уровню смертности (60–100 %) только в зоне рецессивного наследования признака (рис. 3).

Как можно заключить по результатам проведенных экспериментов, резистентность к пиретроидным инсектоакарицидам детерминируется главной мутацией по «*kdr*-фактору» и дополнительно — по гену карбоксилэстеразной активности. Вторая мутация, не является облигатной и присутствует в случаях проявления самого высокого уровня устойчивости членистоногих к этим соединениям.

Гибридологический анализ наследования признака резистентности к абамектину и бромпропилату выявил типично дигенную детерминацию признака резистентности к обоим токсикантам. При этом наследование признака устойчивости в поколении F_1 к абамектину было доминантным, а к бромпропилату — не полностью рецессивным. Анализирующее скрещивание гибридных самок первого поколения (F_1) этих линий с чувствительным к абамектину и резистентным к бромпропилату самцами давало в обоих случаях четыре группы возможных аллельных комбинаций распределения по уровням смертности получаемого в (Fa) потомства самок (рис. 4 и 5).

Проведенным гибридологическим анализом выявлены главные гены, определяющие фенотипическое выражение признака резистентности к инсектоакарицидам четырех различных химических групп. Значения показателей перекрестной резистентности для клещей отобраных линий (табл. 1) свидетельствовали о том, что действие главных генов, детерминирующих устойчивость к абамектину и бромпропилату, в значительной мере связано с активностью полимерных факторов.

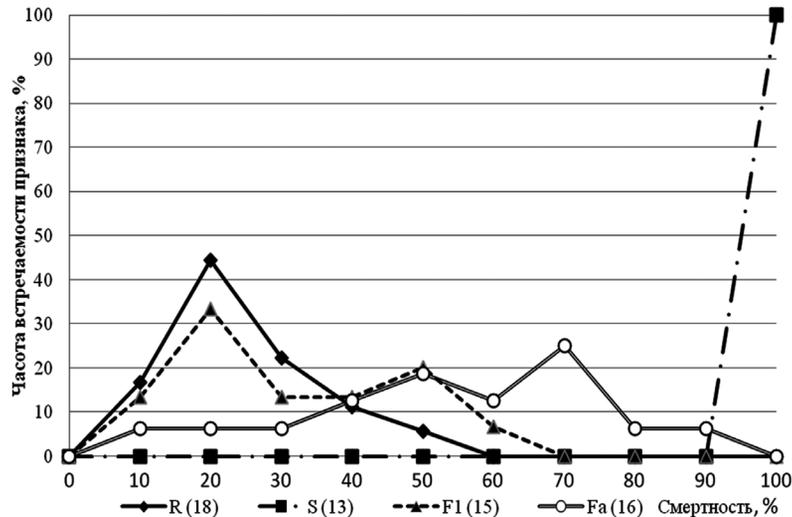


Рис. 4. Распределение семей по уровням смертности самок в чувствительной (S) и резистентной (R) родительских линиях, а также гибридов первого поколения (F1) и гибридов возвратного скрещивания (Fa) после обработки дискриминирующей концентрацией абамектина. В скобках указано количество протестированных семей для получения среднестатистических значений

Для выяснения их участия в механизме противодействия отравлению необходимо проведение дополнительных экспериментов.

Резистентность к абамектину, по имеющимся литературным сведениям, может определяться доминантной мутацией, ослабляющей воздействие токсиканта на глутаматные рецепторы ГАМК, и доминантной мутацией, модифицирующей функциональную активность митохондриальной монооксигеназной системы. Устойчивость к бромпропилату связывают также с воздействием на монооксигеназную систему и, предположительно, с рецессивной мутацией по «*kdr*-фактору».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Имеющийся изначально в популяционном генофонде у различных особей обыкновенного паутиного клеща набор всевозможных биохимических мутаций определяет большой биотический потенциал этого вида для быстрого формирования резистентности к любому токсиканту. Дизруптивный отбор в инбредных линиях клещей по признаку устойчивости к диметоату позволил получить чувствительную и высоко резистентную гомозиготные линии. Признак резистентности к фосфорорганическому акарициду у этих клещей наследовался доминантно, а его фено-

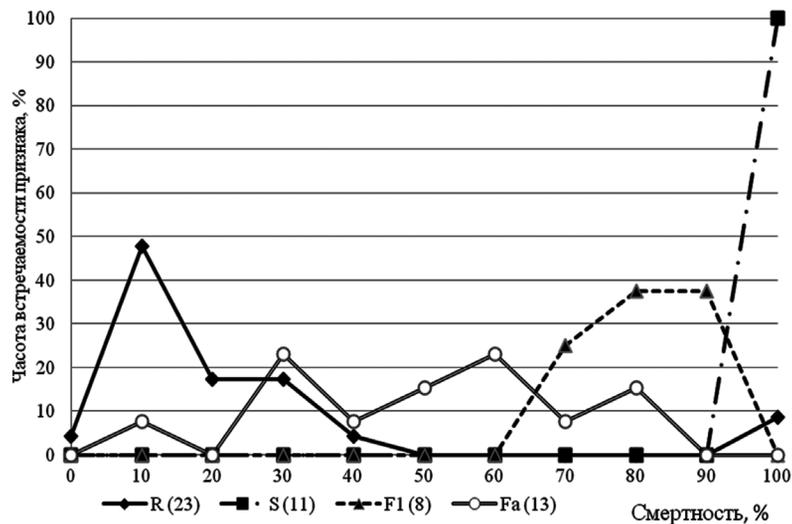


Рис. 5. Распределение семей по уровням смертности самок в чувствительной (S) и резистентной (R) родительских линиях, а также гибридов первого поколения (F1) и гибридов возвратного скрещивания (Fa) после обработки дискриминирующей концентрацией бромпропилата. В скобках указано количество протестированных семей для получения среднестатистических значений

типическое проявление было обусловлено мутацией, вызывающей увеличение синтеза одной из множественных молекулярных форм амфифильной карбоксилэстеразы. Повышение активности этого фермента у резистентных членистоногих многие авторы связывают с усилением им детоксикации различных инсектоакарицидов (Devorshak, Roe, 1998; Goh et al., 1995; Oakeshott et al., 2005). Однако карбоксилэстераза может гидролизовать оказавшиеся в межклеточных жидкостях организма членистоногих ксенобиотики только в том случае, если они по своей химической структуре будут сложными карбоксиэфирами, например, малатион или пиретроидные инсектоакарициды. Фосфорорганические соединения, не являющиеся карбоксиэфирами, ингибируют активность всех эстераз, включая и карбоксилэстеразу. Повышение активности карбоксилэстеразы у резистентных к инсектоакарицидам членистоногих может противодействовать их отравлению другим способом.

Основной физиологической функцией карбоксилэстеразы, как известно, является участие в гидролизе и транспорте через биомембраны клеток циркулирующих в межклеточных жидкостях биорегуляторов химических реакций, являющихся сложными карбоксиэфирами, таких как ювенильный гормон, а также карбоксиэфиров, образующихся в течение различных метаболических реакций. С помощью этого процесса происходит трансмембранное перемещение таких соединений из клеточных и внеклеточных жидкостей в структуры выделительной системы. Это должно быть неразрывно связано и с общей циркуляцией органических веществ и продуктов их метаболизма в жидкостях внутренней среды. Увеличение количества амфифильной карбоксилэстеразы, у резистентных к инсектоакарицидам членистоногих должно противодействовать быстрому блокированию межклеточного транспорта сложноэфирных соединений, предотвращая или затрудняя этим развитие летального патогенеза.

Основным биохимическим механизмом резистентности до настоящего времени считается интенсивность метаболизма инсектоакарицидов в организме членистоногих. Уровень резистентности членистоногих, как полагают, должен зависеть от количества разрушенного в их организме токсиканта эстеразой, глутатион-S-трансферазой или монооксигеназами (Leeuwen et al., 2010; Li et al., 2007). Сведения об этиологии летального действия инсектоакарицидов на членистоногих дают основание сомневаться в правильности такого представления.

Действие любого инсектоакарицида острого токсического действия на членистоногих во всех случаях начинается со связывания с периферическими рецепторами, локализованными в плазматических мембранах клеток. Это является пусковым механизмом патогенеза летального отравления, а непосредственной причиной гибели членистоногих при действии инсектоакарицидов является быстрое и необратимый критический сдвиг от нор-

мы количественного соотношения содержания воды и электролитов в жидкостях организма (Сундуков, 2012). Между этими крайними физиологическими состояниями происходят патологические изменения важнейших для жизнедеятельности организма процессов нейрональной и гормональной регуляции с различными сопутствующими нарушениями.

Инсектоакарицид запускает цепь патогенеза отравления у членистоногих в момент первичного локального контакта со своей «мишенью» — рецепторами нервной системы. Возможное последующее проникновение токсиканта через покровы, распространение его в межклеточных жидкостях организма и гипотетическое разрушение различными ферментными системами, за исключением случаев сублетального действия, уже не будет иметь значения для развития процессов летального патогенеза. Проявление резистентности членистоногих к инсектоакарицидам будет зависеть от усиления генетически детерминируемой реактивности организма — способности различных компенсаторных биохимических реакций, таких как повышение активности карбоксилэстеразы или монооксигеназ, способствовать восстановлению нарушаемых в течение развития летального патогенеза жизненно важных функций.

У членистоногих, отравленных любыми инсектоакарицидами острого токсического действия, на начальном этапе патогенеза можно обнаружить нарушения различных тесно взаимосвязанных процессов клеточного метаболизма — трансмембранных сигнальных связей, процессов окислительного фосфорилирования в митохондриях, функционирования ионных каналов, интенсивности цитоплазматического обмена веществ, транспорта продуктов распада и прочее. Отличия первичного действия инсектоакарицидов различного химического строения на «мишень» будут определяться тем, с какого из этих взаимозависимых функциональных нарушений начнется развитие процессов патогенеза и генетическая детерминация биохимических модификаций, повышающих устойчивость членистоногих к действию токсиканта, должна быть направлена на уменьшение «чувствительности» к его начальному деструктивному действию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М. Л. (1959) Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига: АН ЛССР.
2. Сундуков О. В. (2012) Этиология острой токсичности инсектоакарицидов и физиологические факторы, определяющие избирательность их действия на членистоногих. СПб.: Наука.
3. Урбах В. Ю. (1964) Биометрические методы. М.: Наука.
4. Bass Ch., Field L. M. (2011) Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Manag. Sci.* V. 67(8): P. 886–890.

5. Bloomquist J.R. (2003) Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* V.54(4): P. 145–156.
6. Burton M. J., Mellor I.R., Duce I.R. et al. (2011) Differential resistance of insect sodium channels with kdr mutations to deltamethrin and DDT. *Insect Biochem. Mol. Biol.* V. 41: P. 723–732.
7. Clark J.M., Scott J.G., Campos F., Bloomquist J.R. (1995) Resistance to avermectins — extent, mechanisms and management implications. *Annu. Rev. Entomol.* V. 40: P. 1–30.
8. Cui F., Lin Z., Wang H. et al. (2011) Two single mutations commonly cause qualitative change of nonspecific carboxylesterases in insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.* V. 41: P. 1–8.
9. Dermauw W., Ilias A., Riga M. et al. (2012) The cytoplasmic loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: Implications for acaricide toxicology and novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.* V. 42: P. 455–465.
10. Devonshire A.L., Field L.M. (1991) Gene amplification and insecticide resistance. *Annu. Rev. Entomol.* V. 36: P. 1–23.
11. Devorshak C., Roe R.M. (1998) The role of esterases in insecticide resistance. *Rev. Toxicol.* V. 2: P. 501–537.
12. Feyereisen R. (2005) Insect cytochrome P450. *Compreh. Molec. Insect Sci.* V. 5: P. 1–77.
13. Field L.M., Foster S.P.I. (2002) Amplified esterase genes and their relationship with insecticide resistance mechanisms in English field populations of the aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pest Manag. Sci.* V. 58(9): P. 889–894.
14. Goh D.K.S., Anspaugh D.D., Motoyama N. et al. (1995) Isolation and characterization of an insecticide resistant associated esterase in the tobacco budworm *Heliothis virescens* (F.). *Pest. Biochem. Physiol.* V. 5: P. 192–204.
15. Gunning R.V., Moores G.D., Jtewess Ph. et al. (2007) Use of pyrethroid analogues to identify key structural features for enhanced esterase resistance in *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag. Sci.* V. 63 (6): P. 569–575.
16. Kwon D.H., Yoon K.S., Clark J.M., Lee S.H. (2010) A point mutation in a glutamate-gated chloride channel confers abamectin resistance in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Mol. Biol.* V. 19: P. 583–591.
17. Leeuwen T. van, Pottelberge S. van, Tirri L. (2005) Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field-collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* V. 61(5): P. 499–507.
18. Leeuwen T. van, Tirry L. (2007) Esterase-mediated bifenthrin resistance in a multiresistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* V. 63(2): P. 150–156.
19. Leeuwen T. van, Vontas J., Tsagkarakou A. et al. (2010) Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochem. Mol. Biol.* V. 40: P. 563–572.
20. Li X.C., Schuler M.A., Berenbaum M.R. (2007) Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol.* V. 52: P. 231–253.
21. Oakeshott J.G., Claudianos C., Campbell P.M. et al. (2005) Biochemical genetics and genomics of insect esterases. *Compreh. Molec. Insect Sci.* V. 5: P. 309–382.
22. Park Y., Lee D., Taylor M.F.J. et al. (2000) A mutation Leu1029 to his in *Heliothis virescens* F. hscrp sodium channel gene associated with a nerve-insensitivity mechanism of resistance to pyrethroid insecticides. *Pest. Biochem. Physiol.* V. 66: P. 1–8.
23. Pottelberge S. van., Leeuwen T. van., Nauen R., Tirri L. (2009) Resistance mechanisms to mitochondrial electron transport inhibitors in a field-collected strain of *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae). *Bull. Entomol. Res.* V. 99(1): P. 23–31.
24. Scott J.G. (1999) Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.* V. 29: P. 757–777.
25. Shono T. (1985) Pyrethroid resistance: importance of kdr-type mechanism. *J. Pest. Sci.* V. 10(1): P. 141–146.
26. Soderlund D.M. (2008) Pyrethroids, knockdown resistance and sodium channels. *Pest Manag. Sci.* V. 64(6): P. 610–616.
27. Stumpf N., Nauen R. (2001) Cross-resistance, inheritance and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* V. 94(4): P. 1577–1583.
28. Šula J., Weyda F. (1983) Esterase polymorphism in several populations of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Experientia.* V. 39: P. 78–79.
29. Zhao X., Salgado V.L. (2010) The role of GABA and glutamate receptors in susceptibility and resistance to chloride channel blocker insecticides. *Pest. Biochem. Physiol.* V. 97: P. 153–160.

INHERITANCE OF ACARICIDE RESISTANCE IN INBREEDING LINES OF TWO-SPOTTED SPIDER MITE

Sundukov O. V., Tulayeva I. A., Zubanov Ye. A.

✿ **SUMMARY: Background:** The two-spotted spider mite is one of the economically important crop pests. Its control has been and still is largely based on the use of acaricides. However, due to its short life cycle and abundant progeny it is able to develop resistance to acaricides very rapidly. The information on mechanisms of resistance is the aim of devising resistance management strategies.

Materials and methods: A laboratory-selected susceptible and resistant inbreeding lines of the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. were used to determine toxicological, cross-resistance, biochemical and genetic data. Mortality caused by acaricide in the F_1 progeny and backcrosses with F_1 females revealed striking differences in the mode of inheritance.

Results: The resistance ratio (RR) calculated from the LC50s of selected susceptible and resistant to dimethoate, bifenthrin, abamectin and bromopropylate lines were 1000, 2600, 2000 and 2000-fold, respectively. Resistance to dimethoate is monogenic dominant inheritance associated with a strong increase in isoenzyme carboxylesterase activity and that could be considered as biochemical marker. Mortality caused by selecting by abamectin in the F_1 and backcross progeny indicated that the mode of inheritance resistance is dominant digenic and by selecting bifenthrin and bromopropylate was incompletely recessive linked with two main genetic mutations.

Conclusion: The biochemical/physiological mechanisms of resistance to acaricides can be categorized as target site insensitivity or regulatory changes in gene expression elevated some enzyme activity that determines the degree viability in arthropods.

✿ **KEY WORDS:** *Tetranychus urticae*; acaricide; resistance; inheritance; carboxylesterase.

✿ REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Belenkiy M. L. (1959) Elementy kolichestvennoy ocenki farmacologicheskogo efekta [Elements of quantitative estimate of pharmacological action] Riga: N-L.
2. Sundukov O. V. (2012) Aetiologija ostroj toxichnosti insectoakaricidov i fiziologicheskie factory, opredelajuschie izbiratelnost ich dejstviya na chlenistonogich [Aetiology of sharp toxic action and physiological factors of selective insecticidal activity on arthropods]. St. Petersburg: N-L.
3. Urbah V. Yu. (1964) Biometricheskie metody [Biometrical methods]. Moskva: N-L.
4. Bass Ch., Field L. M. (2011) Pest Manag. Sci. V. 67(8): P. 886–890.
5. Bloomquist J. R. (2003) Arch. Insect Biochem. Physiol. V. 54 (4): P. 145–156.
6. Burton M. J., Mellor I. R., Duce I. R. et al. (2011) Insect Biochem. Mol. Biol. V. 41: P. 723–732.
7. Clark J. M., Scott J. G., Campos F., Bloomquist J. R. (1995) Annu. Rev. Entomol. V. 40: P. 1–30.
8. Cui F., Lin Z., Wang H. et al. (2011) Insect Biochem. Mol. Biol. V. 41: P. 1–8.
9. Dermauw W., Ilias A., Riga M. et al. (2012) Insect Biochem. Mol. Biol. V. 42: P. 455–465.
10. Devonshire A. L., Field L. M. (1991) Annu. Rev. Entomol. V. 36: P. 1–23.
11. Devorshak C., Roe R. M. (1998) Rev. Toxicol. V. 2: P. 501–537.
12. Feyereisen R. (2005) Compreh. Molec. Insect Sci. V. 5: P. 1–77.
13. Field L. M., Foster S. P. I. (2002) Pest Manag. Sci. V. 58(9): P. 889–894.
14. Goh D. K. S., Anspaugh D. D., Motoyama N. et al. (1995) Pest. Biochem. Physiol. V. 5: P. 192–204.
15. Gunning R. V., Moores G. D., Jtwess Ph. et al. (2007) Pest Manag. Sci. V. 63 (6): P. 569–575.
16. Kwon D. H., Yoon K. S., Clark J. M., Lee S. H. (2010) Insect Mol. Biol. V. 19: P. 583–591.
17. Leeuwen T. van, Pottelberge S. van, Tirri L. (2005) Pest Manag. Sci. V. 61 (5): P. 499–507.
18. Leeuwen T. van, Tirry L. (2007) Pest Manag. Sci. V. 63(2): P. 150–156.
19. Leeuwen T. van, Vontas J., Tsagkarakou A. et al. (2010) Insect Biochem. Mol. Biol. V. 40: P. 563–572.
20. Li X. C., Schuler M. A., Berenbaum M. R. (2007) Annu. Rev. Entomol. V. 52: P. 231–253.
21. Oakeshott J. G., Claudianos C., Campbell P. M. et al. (2005) Compreh. Molec. Insect Sci. V. 5: P. 309–382.
22. Park Y., Lee D., Taylor M. F. J. et al. (2000) Pest. Biochem. Physiol. V. 66: P. 1–8.
23. Pottelberge S. van., Leeuwen T. van., Nauen R., Tirri L. (2009) Bull. Entomol. Res. V. 99(1): P. 23–31.
24. Scott J. G. (1999) Insect Biochem. Mol. Biol. V. 29: P. 757–777.
25. Shono T. (1985) J. Pest Sci. V. 10 (1): P. 141–146.
26. Soderlund D. M. (2008) Pest Manag. Sci. V. 64 (6): P. 610–616.
27. Stumpf N., Nauen R. (2001) J. Econ. Entomol. V. 94 (4): P. 1577–1583.
28. Šula J., Weyda F. (1983) Experientia. V. 39: P. 78–79.
29. Zhao X., Salgado V. L. (2010) Pest. Biochem. Physiol. V. 97: P. 153–160.

✿ Информация об авторах

Сундуков Олег Вениаминович — к. б. н., старший научный сотрудник. Лаборатория экотоксикологии. Всероссийский НИИ защиты растений. 196608, Санкт-Петербург, шоссе Подбельского, д. 3. E-mail: Sunduckov.oleg@yandex.ru.

Sundukov Oleg Veniaminovich — PhD, Senior scientist. Laboratory ecotoxicology. State scientific establishment All-Russian institute for plant Protection. 196608, Saint Petersburg, shosse Podbelskogo, 3. Russia. E-mail: Sunduckov.oleg@yandex.ru.

Тулаева Ирина Анатольевна — к. б. н., научный сотрудник. Лаборатория экотоксикологии. Всероссийский НИИ защиты растений. 196608, Санкт-Петербург, шоссе Подбельского, д. 3. E-mail: zubanov63@yandex.ru.

Tulayeva Irina Anatolyevna — PhD, scientist. Laboratory ecotoxicology. State scientific establishment All-Russian institute for plant Protection. 196608, Saint Petersburg, shosse Podbelskogo, 3. Russia. E-mail: zubanov63@yandex.ru.

Зубанов Евгений Александрович — научный сотрудник. Лаборатория экотоксикологии. Всероссийский НИИ защиты растений. 196608, Санкт-Петербург, шоссе Подбельского, д. 3. E-mail: zubanov63@yandex.ru.

Zubanov Yevgeniy Aleksandrovich — PhD, scientist. Laboratory ecotoxicology. State scientific establishment All-Russian institute for plant Protection. 196608, Saint Petersburg, shosse Podbelskogo, 3. Russia. E-mail: zubanov63@yandex.ru.