

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

ФГБНУ «Всероссийский НИИ  
защиты растений»,  
Санкт-Петербург

У гибридов обыкновенного пау-  
тинного клеща, гомозиготных по  
признакам устойчивости к отдель-  
ным акарицидам линий, выясняли  
биохимический механизм эпи-  
статического взаимодействия  
генов резистентности к малатиону  
и бифентрину, малатиону и абамек-  
тину. Возможность межallelельной  
комплементации на этапах транскрипции и трансляции определяли с помощью белкового маркера гена резистентности к малатиону, выявлявшегося электрофоретически. По результатам экспериментов сделан вывод, что эпистатическое влияние на ген резистентности к действующему акарициду гена резистентности к токсиканту другой химической группы является следствием конкурентной несовместимости восстановительных процессов обмена веществ на этапе фенотипической регуляции экспрессии генов.

✿ **Ключевые слова:** паутинный клещ; резистентность; акарицид; наследование признака; карбоксилэстераза.

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ЭПИСТАТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ИНСЕКТОАКАРИЦИДАМ РАЗЛИЧНЫХ ХИМИЧЕСКИХ КЛАССОВ У МЕЖЛИНЕЙНЫХ ГИБРИДОВ ОБЫКНОВЕННОГО ПАУТИННОГО КЛЕЩА

### ВВЕДЕНИЕ

Присутствие в геноме самок межлинейных гибридов обыкновенного паутинного клеща двух генов, детерминирующих резистентность к акарицидам различных химических классов, достоверно увеличивает их чувствительность к действию каждого из этих токсикантов по сравнению с гомозиготными особями по генам резистентности только к какому-либо одному из сопоставляемых акарицидов [6]. Дополнительные эксперименты были проведены с целью выявления у таких гибридов этапа в экспрессии информации, кодируемой каждым из генов, на котором происходит их взаимодействие, проявляющееся в конечном фенотипическом выражении признака резистентности к действующему акарициду как эпистатическое.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизруптивным отбором получены инбредные линии обыкновенного паутинного клеща *Tetranychus urticae* Koch., проявляющие резистентность или чувствительность к одному из сопоставляемых акарицидов. Семьи клеща от единичных самок, отобранных предварительным тестированием, содержали на листовых плотиках фасоли, уложенных на мокрую вату. Новое поколение клеща резистентной к токсиканту линии было потомством самок, взятых из семей с уровнем смертности 0–10 % после обработки диагностической ( $СК_{95} \times 2$  для клещей чувствительной линии) весовой концентрацией (в % по действующему веществу) селективирующего акарицида. Дизруптивный отбор линий клеща проводили тремя акарицидами — малатионом (50 % к. э.<sup>1</sup> карбофоса), бифентрином (10 % к. э. талстара) и абамектином (1,8 % к. э. вертимека). Диагностическими концентрациями являлись: для малатиона — 0,05 %, для бифентрина — 0,002 %, для абамектина — 0,00009 %. Тестирование проводили методом окунания в водный раствор токсиканта кусочка листа фасоли с посаженными на него 7–10-ю самками одной семьи. Смоченная токсикантом высечка листа с клещами затем помещалась на сухой отдельный листовой плотик.

Чувствительную к акарициду линию клеща получали методом sibселекции от сестер самок из семей со 100 % смертностью при действии диагностической концентрации токсиканта. Уровень смертности самок во всех вариантах определяли через 24 часа после обработки токсикантом.

Средние летальные концентрации каждого акарицида вычисляли методом пробит-анализа по Литчфильду и Уилкоксона [1]. Стандартные ошибки средних арифметических значений процента смертности и коэффициенты вариаций рассчитаны по соответствующим формулам [7] с помощью компьютерных программ.

<sup>1</sup> к.э. — концентрат эмульсии.

Поступила в редакцию 29.01.2017  
Принята к публикации 28.04.2017

Скрещивание клещей полученных линий с генами резистентности к акарицидам различных химических классов проводили реципрочно. Токсикологическое тестирование потомства первого поколения гибридных самок и статистическая обработка результатов выполнены так же, как это делалось на гомозиготных по гену резистентности к акарициду самках отселектированных линий.

Фракции эстераз выявляли 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 %. Самку клеща гомогенизировали в 40 мкл 40 % сахарозы. Инкубационная среда готовилась на 0,2 М фосфатным буфере pH 6,9 с использованием 1-нафтилацетата в качестве гидролизуемого эстеразами субстрата и прочного синего RR в качестве красителя [2].

Одновременно молекулярный маркер гена резистентности к малатиону выявляли тиохолиновым методом [18] в гомогенате из 20 самок клеща отдельных семей, приготовленном с 50 мкл 40 % сахарозы. В качестве гидролизуемого субстрата использовали *s*-бутирилтиохолиниодид. При выявлении ацетилхолинэстеразной фракции в сахарозу добавляли 1 % детергента — тритона X-100.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У членистоногих, резистентных к инсектоакарицидам, которые ингибируют эстеразную активность или являются по химическому строению карбоксиэфирами, в организме обнаруживается значительно более высокая, чем у чувстви-

тельных к таким токсикантам особей, карбоксилэстеразная активность (КФ 3.1.1.1). Такое фенотипическое выражение мутации, как выяснено, обусловлено амплификацией локуса ДНК, кодирующего синтез одной из множественных молекулярных форм этого фермента [10, 15, 17]. Электрофоретическая фракция этого изоэзима в проводившихся экспериментах служила молекулярным маркером гена резистентности к малатиону. По активности этой фракции в различных вариантах экспериментов сопоставлялись самки гомозиготной по признаку резистентности к малатиону линии с самками межлинейных гибридов, у которых в геноме присутствовали аллели резистентности к малатиону и бифентрину или к малатиону и абамектину.

Полученные семьи гомозиготных клещей и гетерозиготных гибридов тестировали диагностической концентрацией сопоставляемых инсектоакарицидов. Уровень устойчивости к токсическому действию малатиона, бифентрина и абамектина самок, гомозиготных по генам резистентности к этим соединениям, представлен в табл. 1, показатели токсичности при действии акарицидов на гетерозиготных гибридных самок с генами резистентности к малатиону и бифентрину или к малатиону и абамектину — в табл. 2 и 3.

Как было показано ранее [5], вследствие партеногенетического способа размножения по типу аррентокии у паутиных клещей при дизруптивном отборе резистентных и чувствительных к токсиканту самок в каждом из инбредно получаемых поколений резистентной линии выявляется до 30 % чувствительных особей. Коэффициент варибельности их присутствия в отдельных поколениях не превы-

Таблица 1

**Смертность гомозиготных по главным генам резистентности к малатиону, бифентрину и абамектину самок от диагностических концентраций токсикантов, которыми селектировались линии клеща**  
**Mortality of females of the spider mite homozygous for the main genes of resistance to malathion, bifenthrin and abamectin from the diagnostic concentrations of the selective acaricides**

Селектирующий токсикант	Кол-во семей	Кол-во ♀♀	Смертность ♀♀ ( $\bar{x} \pm Sp$ ) в %	Коэффициент вариации ( $v$ в %)
Малатион	35	540	20,8 ± 1,9	9,1 ± 0,27
Бифентрин	37	588	26,4 ± 2,0	7,6 ± 0,22
Абамектин	29	411	32,5 ± 2,4	7,4 ± 0,26

Таблица 2

**Смертность гетерозиготных по главным генам резистентности к малатиону и бифентрину самок клеща при дифференцированном действии диагностических концентраций этих токсикантов**  
**Mortality of females of the spider mite heterozygous for main genes of resistance to malathion and bifenthrin at the differential treated by diagnostic concentrations of these acaricides**

Действующий токсикант	Варианты скрещивания	Кол-во семей	Кол-во ♀♀	Смертность ♀♀ ( $\bar{x} \pm Sp$ ) в %	Коэффициент вариации ( $v$ в %)
Малатион	♀R-мал. × ♂г-биф.	62	421	36,6 ± 2,1	5,7 ± 0,19
	♀г-биф. × ♂R-мал.	73	501	44,5 ± 2,0	4,5 ± 0,14
Бифентрин	♀R-мал. × ♂г-биф.	69	554	80,5 ± 1,7	2,1 ± 0,06
	♀г-биф. × ♂R-мал.	78	768	84,9 ± 2,3	2,7 ± 0,07

Таблица 3

Смертность гетерозиготных по главным генам резистентности к малатиону и абамектину самок клеща при дифференцированном действии диагностических концентраций этих токсикантов  
Mortality of females of the spider mite heterozygous for main genes of resistance to malathion and abamectin at the differential treated by of diagnostic concentrations of these acaricides

Действующий токсикант	Варианты скрещивания	Кол-во семей	Кол-во ♀♀	Смертность ♀♀ ( $\bar{x} \pm Sp$ ) в %	Коэффициент вариации ( $v$ в %)
Малатион	♀R-мал. × ♂R-абам.	78	484	33,7 ± 2,1	6,2 ± 0,2
	♀R-абам. × ♂R-мал.	79	474	42,6 ± 2,3	5,4 ± 0,17
Абамектин	♀R-мал. × ♂R-абам.	56	551	68,9 ± 2,0	2,9 ± 0,09
	♀R-абам. × ♂R-мал.	61	486	79,5 ± 1,9	2,4 ± 0,08

шает при этом 10 %. Смертность гетерозиготных самок с генами резистентности к малатиону и бифентрину при действии диагностических концентраций этих токсикантов (табл. 2) двукратно превышала уровень смертности гомозиготных самок клещей только с одним геном резистентности к каждому из этих токсикантов (табл. 1). Аналогичную реакцию на действие диагностических концентраций акарицидов проявляли и гетерозиготные самки с генами резистентности к малатиону и абамектину (табл. 3).

При сопоставлении гомозиготных и гибридных самок клеща по составу электрофоретических фракций эстераз получены следующие результаты.

В гомогенате единичных самок клеща выявлялись только изоцимы карбоксилэстеразы  $E_2$ – $E_5$ , гидролизовавшие 1-нафтилацетат (рис. 1, а, б). Концентрация других ферментов эстеразного комплекса была недостаточной для их отчетливого обнаружения применяемым методом. Среди изоцимов карбоксилэстеразы в норме всегда самой активной была фракция  $E_5$ . Карбоксилэстеразная фракция  $E_3$  была высокоактивной только у резистентных к малатиону клещей (рис. 1, а, б).

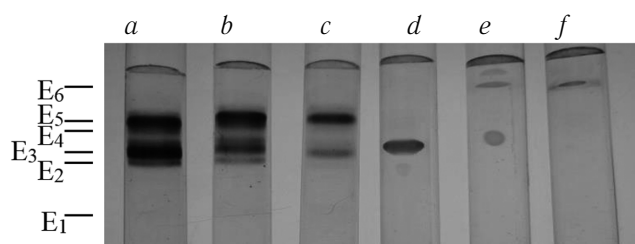


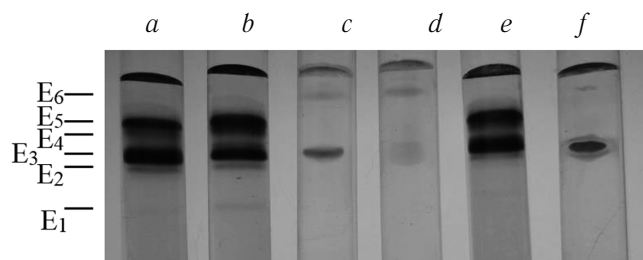
Рис. 1. Выявление изоцима карбоксилэстеразы  $E_3$  у гомозиготных по гену резистентности к малатиону самок клеща: а — 1♀R-мал., б — 1♀S-мал., с — 1♀R-мал. (обработ.); д — 20♀♀R-мал., е — 20♀♀S-мал., ф — 20♀♀R-мал. Гидролизуемые субстраты: 1 — нафтилацетат (а, б, с), бутирилтиохолиниодид (д, е), ацетилтиохолиниодид (ф)

Fig. 1. Identification of the allozyme  $E_3$  carboxylesterase in females homozygous for the gene of resistance to malathion: а — 1♀R-mal., б — 1♀S-mal., с — 1♀R-mal. (treatment); д — 20♀♀R-mal., е — 20♀♀S-mal., ф — 20♀♀R-mal. Substrates for hydrolysis: 1 — naphthylacetate (а, б, с), butyrylthiocholine iodide (д, е), acetylthiocholine iodide (ф)

Через 24 часа после обработки диагностической концентрацией малатиона резистентных к нему самок в их организме обнаруживались только эти две фракции ( $E_3$  и  $E_5$ ) изоцимов карбоксилэстеразы с частично подавленной активностью (рис. 1, с).

Тиохолиновым методом в гомогенате 20 резистентных к малатиону самок отдельных семей выявлялась только одна маркерная фракция карбоксилэстеразы  $E_3$  (рис. 1, д). В гомогенате 20 чувствительных к малатиону клещей помимо этой фракции, существенно более низкой по активности, чем у резистентных самок, присутствовала еще ацетилхолинэстеразная (КФ 3.1.1.7) фракция  $E_6$  (рис. 1, е), слабоактивная и поэтому не всегда обнаруживаемая у резистентных клещей. Доказательством идентификации этой фракции как ацетилхолинэстеразной, помимо наименьшей электрофоретической подвижности, являлась ее способность гидролизовать пропионилтиохолиниодид и ацетилтиохолиниодид (рис. 1, ф). Изоцим карбоксилэстеразы  $E_3$  эти субстраты не гидролизует. Таким образом, индуцируемый геном резистентности к фосфорорганическому токсиканту механизм защиты от отравления, заключающийся в усилении синтеза множественной молекулярной формы карбоксилэстеразы, сопровождается снижением активности другого фермента эстеразного комплекса — ацетилхолинэстеразы. Это является экспериментальным подтверждением результатов, полученных еще на начальном этапе изучения биохимических механизмов резистентности к фосфорорганическим соединениям. Определяемая колориметрическим методом скорость гидролиза ацетилхолина гомогенатами резистентных к параоксону и диазоксону паутиных клещей была на 20 % ниже, чем у клещей, чувствительных к этим соединениям [26]. Автор предположил, что мутация у резистентных к фосфорорганическим соединениям клещей детерминирует количественные различия синтезируемых ферментов эстеразного комплекса. Методом электрофореза стабильно выявляются сравнительные различия в активности фракций ацетилхолинэстеразы и карбоксилэстеразы у резистентных и чувствительных к малатиону генотипов.

В отличие от моногенной детерминации признака резистентности к малатиону наследование признака резистентности к бифентрину является дигенным и не пол-



**Рис. 2.** Выявление изозима карбоксилэстеразы  $E_3$  у гомозиготных по генам резистентности к бифентрину и гибридных самок: *a* — 1♀R-биф., *b* — 1♀S-биф., *c* — 20♀♀R-биф., *d* — 20♀♀S-биф., *e* — 1♀R-биф.-мал., *f* — 20♀♀R-биф.-мал. Гидролизуемые субстраты: *l* — нафтилацетат (*a, b, e*) и бутирилтиохолиниодид (*c, d, f*)

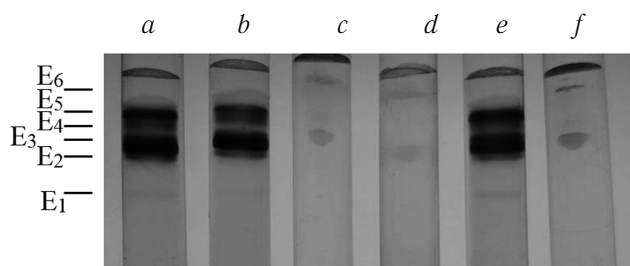
**Fig. 2.** Identification of the allozyme  $E_3$  carboxylesterase in females homozygous for the genes of resistance to bifenthrin and hybrid bifenthrin-malathion: *a* — 1♀R-bif., *b* — 1♀S-bif., *c* — 20♀♀R-bif., *d* — 20♀♀S-bif., *e* — 1♀R-bif.-mal., *f* — 20♀♀R-bif.-mal. Substrates for hydrolysis: *l* — naphthylacetate (*a, b, e*) and s-butrylthiocholine iodide (*c, d, f*)

ностью рецессивным [4]. Один из главных генов резистентности к пиретроидным соединениям, вызывающий нарушение функций натриевых каналов, — рецессивный. Второй ген, кодирующий увеличение активности карбоксилэстеразы [4, 21], как и у членистоногих, резистентных к фосфорорганическим токсикантам, должен быть доминантным, что и определяет неполную рецессивность признака резистентности.

У гомозиготных по гену резистентных к бифентрину единичных самок активность изозима  $E_3$  по отношению к 1-нафтилацетату была несколько выше, чем у чувствительных особей (рис. 2, *a, b*). Различия были более четкими при сопоставлении тиохолиновым методом активности этой фракции в гомогенатах из 20 резистентных и чувствительных самок при гидролизе s-бутирилтиохолиниодида (рис. 2, *c, d*). У гетерозиготных самок клеща, имеющих гены резистентности к малатиону и бифентрину, никакого снижения активности маркерной фракции карбоксилэстеразы  $E_3$ , по сравнению с гомозиготными особями, не происходит (рис. 2, *e, f*).

Дигенная и доминантная по главным генам резистентности детерминация признака устойчивости к абамектину [4] не связана с усилением синтеза карбоксилэстеразного изозима  $E_3$ . По интенсивности гидролиза и 1-нафтилацетата, и s-бутирилтиохолиниодида у гомозиготных самок клеща, резистентных и чувствительных к абамектину, активность этого маркерного изозима была одинаковой (рис. 3, *a–d*).

У гибридных самок клеща с совмещенными в геноме аллелями резистентности к малатиону и абамектину маркерная фракция карбоксилэстеразы  $E_3$  по интенсивности гидролиза s-бутирилтиохолиниодида была выше, чем у гомозиготных по генам резистентности к абамектину клещей (рис. 3, *f*).



**Рис. 3.** Выявление изозима карбоксилэстеразы  $E_3$  у гомозиготных по генам резистентности к абамектину и гибридных самок: *a* — 1♀R-абам., *b* — 1♀S-абам., *c* — 20♀♀R-абам., *d* — 20♀♀S-абам.; *e* — 1♀R-абам.-мал., *f* — 20♀♀R-абам.-мал. Гидролизуемые субстраты: *l* — нафтилацетат (*a, b, e*) и бутирилтиохолиниодид (*c, d, f*)

**Fig. 3.** Identification of the allozyme  $E_3$  carboxylesterase in females homozygous for the genes of resistance to abamectin and hybrid abamectin-malathion: *a* — 1♀R-abam.; *b* — 1♀S-abam., *c* — 20♀♀R-abam.; *d* — 20♀♀S-abam.; *e* — 1♀R-abam.-mal., *f* — 20♀♀R-abam.-mal. Substrates for hydrolysis: *l* — naphthylacetate (*a, b, e*) and s-butrylthiocholine iodide (*c, d, f*)

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

У гетерозиготных самок обыкновенного паутинового клеща на этапах транскрипции и трансляции гены резистентности к бифентрину и к абамектину не оказывают влияния на синтез ферментативного белка, детерминированного геном резистентности к малатиону. Генотипическая супрессия, проявляющаяся в ослаблении выражения признака резистентности по уровню смертности к действующему акарициду, у межлинейных гибридов должна происходить на третьем этапе экспрессии генетической информации — при осуществлении регуляции биохимических процессов, детерминированных каждым из генов.

Непосредственной причиной гибели членистоногих при отравлении инсектоакарицидами острого токсического действия является критическая потеря из организма воды и электролитов [3]. Проявление признака резистентности связано с изменением интенсивности обменных процессов, поддерживающих гомеостаз водного и электролитного состава жидкостей внутренней среды, а также уровень внутриклеточного энергетического обмена, обеспечивающего осуществление этих процессов. Развитие признака резистентности к каждому из токсикантов, по противодействию вызываемых ими патологических сдвигов, происходит посредством осуществления ряда взаимозависимых биохимических процессов, восстанавливающих регуляторные системы транспорта воды и электролитов через биологические мембраны.

Начальным этапом летального патогенеза при отравлении членистоногих инсектоакарицидами является их встраивание в липидный бислой плазматической мембраны клеток [8, 9, 19, 29]. Это вызывает нарушение функций различных интегральных компонентов мембраны — рецепторов, ионных каналов, встроенных в мембрану ферментов.

Пиретроидные соединения изначально расстраивают работу воротного механизма натриевых каналов, которые остаются открытыми дольше необходимого времени, что приводит к деполяризации электрического потенциала плазматических мембран [13, 24, 27, 28].

Авермектины блокируют рецепторы нейрогормональных медиаторов — глутамата, гистамина, серотонина, гамма-аминомасляной кислоты, контролирующих реализацию важнейших физиологических функций. Следствием этого являются аномалии трансмембранного перераспределения анионов хлора и катионов кальция с последующими нарушениями процессов метаболизма, которые осуществляются с их участием [11, 12, 14, 20, 30].

Фосфорорганические соединения подавляют активность карбоксилэстераз, от которых в значительной мере зависит проницаемость биомембран для ионов, биологически активных веществ, сахаров, аминокислот и липидов [16, 25].

Последовательность включения генами резистентности к акарицидам компенсаторных механизмов, противодействующих интоксикации, зависит от того, какие первичные молекулярные нарушения вызывает каждый из токсикантов. Присутствующий у гибридных клещей ген резистентности к акарициду другого химического класса будет поэтому конкурентно затруднять осуществление экспрессии активируемого токсикантом гена.

Широко обсуждаемые в литературных источниках механизмы ферментативной «детоксикации» химических инсектоакарицидов в качестве факторов резистентности не могут быть таковыми, поскольку токсикант, попадая на тело членистоногого, остается в липидных структурах плазматических мембран клеток по месту первичного контакта с ними. Обнаруживаемый у резистентных к инсектоакарицидам членистоногих более высокий уровень монооксигеназной, глутатион-S-трансферазной активности [22, 23] и активности других ферментов является показателем детерминированного геном резистентности к токсиканту повышения интенсивности обменных процессов, усиливающих реактивные свойства организма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Рига: АН Латв. ССР, 1959. [Belenkiy ML. Elements of quantitative estimate of pharmacological action. Riga: AN Latv. SSR; 1959. (In Russ.)]
2. Маурер Г. Диск-электрофорез. — М.: Мир, 1971. [Disk-Elektrophorese. Moskow: Mir, 1971. (In Russ.)]
3. Сундуков О.В. Этиология острой токсичности инсектоакарицидов и физиологические факторы, определяющие избирательность их действия на членистоногих. — СПб.: Наука, 2012. [Aetiology of sharp toxic action and physiological factors of selective insecticidal activity on arthropods. Saint Petersburg: Nauka; 2012. (In Russ.)]
4. Сундуков О.В., Тулаева И.А., Зубанов Е.А. Наследование признаков резистентности к акарицидам в инбредных линиях обыкновенного паутиного клеща // Экол. генетика. — 2014. — Т. 12. — № 3. — С. 43–51. [Sundukov OV, Tulaeva IA, Zubanov YeA. *Ecol Genetics*. 2014;12(3):43-51. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ecogen123.
5. Сундуков О.В., Тулаева И.А., Зубанов Е.А. Проявление признаков резистентности к инсектоакарицидам в инбредных линиях обыкновенного паутиного клеща при дизруптивном отборе // Экол. генетика. — 2015. — Т. 13. — № 3. — С. 76–84. [Sundukov OV, Tulaeva IA, Zubanov YeA. *Ecol. Genetics*. 2015;13(3):76-84. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ecogen123.
6. Сундуков О.В., Тулаева И.А., Зубанов Е.А. Эпистатическое взаимодействие генов резистентности к акарицидам у межлинейных гибридов обыкновенного паутиного клеща // Экол. генетика. — 2016. — Т. 14. — № 1. — С. 27–33. [Sundukov OV, Tulaeva IA, Zubanov YeA. *Ecol. Genetics*. 2016;14(1):27-33. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ecogen14127-33.
7. Урбах В.Ю. Биометрические методы. — М.: Наука, 1964. [Urbah VYu. Biometrical methods. Moscow: Nauka; 1964. (In Russ.)]
8. Antunes-Madeira MC, Madeira VMC. Interaction of insecticides with lipid membranes. *Bichim Biophys Acta*. Biomembranes. 1979;550:384-392. doi: 10.1016/0005-2736(79)90143-3.
9. Antunes-Madeira MC, Madeira VMC. Membrane partitioning of organophosphorus insecticides and its implications for mechanisms of toxicity. *Pest Manag Sci*. 1989;26:167-179. doi: 10.1002/ps.2780260208.
10. Bass Ch, Field LM. Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Manag Sci*. 2011;67(8):886-890. doi: 10.1002/ps.2189.
11. Bloomquist JR. GABA and glutamate receptors as biochemical sites for insecticide action. In Ishaaya I. (ed.), *Biochemical sites of insecticide action and resistance*. New York: Springer; 2001. P. 17-41. doi: 10.1007/978-3-642-59549-3\_2.
12. Bloomquist JR. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Arch Insect Biochem Physiol*. 2003;54(4):145-156. doi: 10.1002/arch.10112.
13. Burton MJ, Mellor IR, Duce IR, et al. Differential resistance of insect sodium channels with *kdr* mutations to deltamethrin and DDT. *Insect Biochem Mol Biol*. 2011;41(9):723-732. doi: 10.1016/j.ibmb.2011.05.004.
14. Dermauw W, Ilias A, Riga M, et al. The cys-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*. 2012;42(7):455-65. doi.org/10.1016/j.ibmb.2012.03.002.
15. Devonshire AL, Field LM. Gene amplification and insecticide resistance. *Annu Rev Entomol*. 1991;36:1-21. doi: 10.1146/annurev.en.36.010191.000245.
16. Devorshak C, Roe RM. The role of esterases in insecticide resistance. *Rev Toxicol*. 1998;2:501-537.

17. Field LM, Foster SPI. Amplified esterase genes and their relationship with insecticide resistance mechanisms in English field populations of the aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pest Manag Sci.* 2002;58:889-894. doi: 10.1002/ps.552.
18. Karnovsky MJ, Roots L. A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterases. *J Histochem Cytochem.* 1964;12(3):219-221. doi: 10.1177/12.3.219.
19. Kayser H, Lee C, Decock A, et al. Comparative analysis of neonicotinoid binding to insect membranes: A structure-activity study of the mode of [<sup>3</sup>H] imidacloprid displacement in *Myzus persicae* and *Aphis craccivora*. *Pest Manag Sci.* 2004;60(10):945-958. doi: 10.1002/ps.919.
20. Kwon DH, Yoon KS, Clark JM, Lee SH. A point mutation in a glutamate-gated chloride channel confers abamectin resistance in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Mol Biol.* 2010;19(4):583-91. doi: 10.1111/j.1365-2583.2010.01017.x.
21. Leeuwen T van, Tirry L. Esterase-mediated bifenthrin resistance in a multiresistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pest Manag Sci.* 2007;63(4):150-156. doi: 10.1111/j.1365-2583.2010.01017.x.
22. Leeuwen T van, Vontas J, Tsagkarakou A, et al. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochem Mol Biol.* 2010;40(8):563-72. doi: 10.1016/j.ibmb.2010.05.008.
23. Li XC, Schuler MA, Berenbaum MR. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu Rev Entomol.* 2007;52:231-253. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151104.
24. Narahashi T. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacol Toxicol.* 1996;79:1-14. doi: 10.1111/j.1600-0773.1996.tb00234.x.
25. Oakeshott JG, Claudianos C, Campbell PM, et al. Biochemical genetics and genomics of insect esterases. *Compreh Molec Insect Sci.* 2005;5:308-381. doi: 10.1016/BO-44-451924-6/00073-9.
26. Smissaert HR. Esterases in spider mites hydrolyzing 1-naphthylacetate. *Nature.* 1965;205(4967):158-160. doi: 10.1038/205158a0.
27. Soderlund DM. Pyrethroids, knockdown resistance and sodium channels. *Pest Manag Sci.* 2008;64(6):610-16. doi: 10.1002/ps.1574.
28. Tsagkarakou A, Leeuwen T, Khajehali J, et al. Identification of pyrethroid resistance associated mutations in the para sodium channel of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insect Mol Biol.* 2009;18(5):583-93. doi: 10.1111/j.1365-2583.2009.00900.x.
29. Wellmann H, Gomes M, Lee C, Kayser H. Comparative analysis of neonicotinoid binding to insect membranes: An unusual high affinity site for [<sup>3</sup>H] thiamethoxam in *Myzus persicae* and *Aphis craccivora*. *Pest Manag Sci.* 2004;60(10):959-970. doi: 10.1002/ps.920.
30. Zhao X, Salgado VL. The role of GABA and glutamate receptors in susceptibility and resistance to chloride channel blocker insecticides. *Pest Biochem Physiol.* 2010;97(2):153-160. doi: 10.1016/j.pestbp.2009.10.002.

#### PHYSIOLOGICAL MECHANISM EPISTATIC INTERACTION OF RESISTANCE GENES TO ACARICIDES OF VARIOUS CHEMICAL CLASSES IN THE INTERLINE HYBRIDS OF TWO-SPOTTED SPIDER MITE

O.V. Sundukov, I.A. Tulaeva,  
E.A. Zubanov

For citation: Ecological genetics. 2017;15(2):44-49

✿ **SUMMARY: Background.** The presence in interline hybrids two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch two genes determining resistance to acaricides of various chemical classes significantly increases their sensitivity to the action of each these toxicants. **Materials and methods.** The resistant and susceptible to malathion, bifenthrin and abamectin inbred lines of spider mite by disruptive selection cycles were obtained. The toxicological tests were performed by diagnostic concentrations of acaricides. The protein marker gene of resistance to malathion was determined by polyacrylamide disc-electrophoresis. **Results.** The epistatic interaction of resistance genes to different acaricides is not manifestation at the stages of transcription and translation of genetic information. **Conclusion.** The epistatic effect of another gene on the resistance gene to the current acaricide is a different consequence of metabolism processes encoded by each gene at the stage of phenotypic regulation.

✿ **KEYWORDS:** *Tetranychus urticae*; acaricide; resistance; inheritance; carboxylesterase.

#### ✿ Информация об авторах

**Олег Вениаминович Сундуков** — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория экотоксикологии. ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений», Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: zubanov63@rambler.ru.

**Ирина Анатольевна Тулаева** — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория экотоксикологии. ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений», Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: zubanov63@rambler.ru.

**Евгений Александрович Зубанов** — научный сотрудник, лаборатория экотоксикологии. ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений», Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: zubanov63@rambler.ru.

#### ✿ Information about the authors

**Oleg V. Sundukov** — PhD, Senior scientist, Laboratory ecotoxicology. All-Russian Institute of Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: zubanov63@rambler.ru.

**Irina A. Tulaeva** — PhD, scientist, Laboratory ecotoxicology. All-Russian Institute of Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: zubanov63@rambler.ru.

**Evgeniy A. Zubanov** — scientist, Laboratory ecotoxicology. All-Russian Institute of Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: zubanov63@rambler.ru.