АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ У КОМНАТНОЙ МУХИ *MUSCA DOMESTICA* L. НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ

Силиванова Е. А.¹,

канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории ветеринарных проблем в животноводстве,
11eas@vniivea.ru

Левченко М. А.¹,

канд. вет. наук, заведующий лабораторией
ветеринарных проблем в животноводстве,
levchenko-m-a@mail.ru

Аннотация

Проблеме резистентности насекомых к инсектицидам во всем мире уделяется большое внимание. Известно, что метаболическая резистентность у насекомых обеспечивается активностью ферментов детоксикации, в том числе гидролазами. Активность ферментов может изменяться в ходе жизненного цикла насекомых. Цель данного исследования заключалась в изучении активности ацетилхолинэстеразы, щелочной и кислой фосфатаз у комнатной мухи *Musca domestica* L. на разных стадиях жизненного цикла. Активность ферментов определяли в гомогенатах, полученных из яиц, личинок II–III возраста, куколок и имаго в возрасте 1, 5 и 10 суток *M. domestica* лабораторной культуры. Согласно полученным результатам активность кислой фосфатазы у особей *M. domestica* на разных стадиях развития не отличалась, а активность ацетилхолинэстеразы и щелочной фосфатазы варьировала в онтогенезе. Активность щелочной фосфатазы была минимальной на стадии яйца, возрастала на стадии личинки, и вновь снижалась на стадии куколки. Активность ацетилхолинэстеразы также была минимальной на стадии яйца и возрастала по мере развития *M. domestica* до стадии куколки, у имаго в возрасте 1 суток не отличалась от предыдущей стадии. Обнаруженные особенности активности гидролитических ферментов детоксикации на разных стадиях жизненного цикла *M. domestica* могут обуславливать особенности метаболической

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра Тюменского научного центра Сибирского Отделения Российской академии наук (ВНИИВЭА - филиал ТюмНЦ СО РАН) (625041, ул. Институтская, 2, г. Тюмень, Российская Федерация)

резистентности к инсектицидам, что, по нашему мнению, следует учитывать при исследованиях инсектицидной резистентности у комнатной мухи.

Ключевые слова: ацетилхолинэстераза, фосфатаза, жизненный цикл, насекомые.

THE ACTIVITY OF HYDROLYTIC ENZYMES IN DIFFERENT LIFE STAGES OF THE HOUSE FLY *MUSCA DOMESTICA* L.

Silivanova E. A.¹,

Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher
of the Laboratory of veterinary problems in livestock,
11eas@vniivea.ru

Levchenko M. A.¹,

Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory
of veterinary problems in livestock,
levchenko-m-a@mail.ru

Abstract

The problem of insect resistance to insecticides attracts great attention in the world. It is known that metabolic resistance in insects is provided by the activity of detoxification enzymes, including hydrolases. Enzyme activities do not remain the same during the life cycle of insects. The purpose of this study was to assess the activity of acetylcholinesterase, alkaline and acid phosphatases in the house fly *Musca domestica* L. at the different lifestages. Enzyme activities were determined in homogenates obtained from eggs, larvae of II – III instar, pupae, and adults (1, 5, and 10 days old) of the *M. domestica* laboratory strain. According to the obtained results, the acid phosphatase activity did not differ in different life stages of *M. domestica*, and the activity of acetylcholinesterase and alkaline phosphatase varied in ontogenesis. Alkaline phosphatase activity was minimal in the eggs, increased in the larvae, and decreased again at the pupal stage. The activity of acetylcholinesterase was minimal in the eggs as well and increased with the *M. domestica* development up to the pupal stage. The acetylcholinesterase activity in one-day-old adults was similar to that in pupal stage. The revealed features of the activity of hydrolytic detoxification enzymes at different life cycle stages of the *M. domestica* might determine the characteristics of metabolic resistance to insecticides, which, in our opinion, should be taken into account when one studies of insecticide resistance in house flies.

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Federal State Institution Federal Research Centre Tyumen Scientific Centre of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ASRIVEA – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS) (625041, Institutskaya st. 2, Tyumen, Russian Federation)

Keywords: acetylcholinesterase, phosphatase, life cycle, insects.

Введение. Комнатная муха *Musca domestica* L. — распространенное во всем мире синантропное насекомое, имеющее ветеринарное и медицинское значение. *Musca domestica* является переносчиком более 100 возбудителей болезней человека и животных, наносит значительный экономический ущерб животноводству и птицеводству, быстро формирует резистентность к инсектицидам [1, 2]. Проблеме резистентности насекомых к инсектицидам во всем мире уделяется большое внимание [3]. Система детоксикации обеспечивает защиту насекомых от воздействия ксенобиотиков и лежит в основе метаболической резистентности к инсектицидам [4]. В обеспечении резистентности к отдельным группам инсектицидов важная роль принадлежит гидролитическим ферментам, в том числе эстеразам и фосфатазам. Цель данного исследования заключалась в изучении активности ацетилхолинэстеразы, щелочной и кислой фосфатаз у комнатной мухи на разных стадиях развития.

Материалы и методы. Исследования выполнены на лабораторной культуре комнатной мухи *Musca domestica* L. Активность ферментов определяли на разных стадиях жизненного цикла: яйцо, личинки II—III возраста, куколки и имаго в возрасте 1, 5 и 10 суток. Из каждой особи (для яиц из 30—40 яиц) готовили гомогенаты вручную путем растирания в стеклянном гомогенизаторе с пестиком на холоде с добавлением 0,1 М фосфатного буфера pH = 7,6. Полученный после центрифугирования (10 мин при 4500 об/мин) супернатант использовали для определения активности ферментов и концентрации белка. Активность щелочной (ЩФ) и кислой фосфатаз (КФ) определяли фотометрически по скорости гидролиза р-нитрофенилфосфата. Активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) определяли фотометрически по методу Элмана. Удельную активность ферментов рассчитывали с учетом разведения гомогената, коэффициента молярной экстинкции субстратов ферментов и содержания белка в гомогенатах.

Результаты исследований. Исследованные гидролитические ферменты детоксикации у *M. domestica* характеризовались наиболее низкой активностью на стадии яйца. Согласно полученным результатам активность кислой фосфатазы находилась в пределах от $1,63 \pm 0,06$ до $2,51 \pm 0,41$ ммоль/мин/мг белка и не зависела от стадии жизненного цикла комнатной мухи. Активность щелочной фосфатазы варьировала от $1,44 \pm 0,29$ до $15,38 \pm 3,83$ ммоль/мин/мг белка. Статистически значи-

мые отличия в активности щелочной фосфатазы выявлены между преимагинальными стадиями развития. Так, активность ЩФ на стадии яйца была минимальной, а на стадии личинки в 2–10 раз превышала активность фермента, обнаруженную на других стадиях развития. В ранее проведенных исследованиях отмечено, что у *M. domestica* активность ЩФ и КФ на стадии куколки ниже по сравнению с физиологически активными личиночной и имагинальной стадиями [5].

Активность ацетилхолинэстеразы изменялась от $0,75 \pm 0,02$ до $15,55 \pm 0,96$ мкмоль/мин/мг белка и возрастала по мере развития *M. domestica* от стадии яйца до куколки. Удельная активность АХЭ в гомогенате личинок была выше, чем в гомогенате яиц в 6–8 раз, а в гомогенате куколок выше, чем в гомогенате личинок в 1,9–2,6 раза. На имагинальной стадии развития активность АХЭ у насекомых в возрасте 1 суток статистически не отличалась от активности фермента куколок.

Заключение. Изменение активности ферментов детоксикации в онтогенезе насекомых определяет их способность адаптироваться к инсектицидной нагрузке на разных стадиях развития. В ходе онтогенеза комнатной мухи *M. domestica* лабораторной культуры выявлена динамика активности гидролитических ферментов детоксикации, наиболее выраженная на преимагинальных стадиях развития. По нашему мнению, при мониторинге чувствительности природных популяций комнатной мухи и при изучении метаболической резистентности к инсектицидам следует учитывать особенности активности ферментов детоксикации на разных стадиях жизненного цикла.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-016-00059.

Литература

1. Рославцева С.А. Синантропные мухи и борьба с ними на современном этапе // Пест-Менеджмент. 2011. № 1(77). С. 23–26.
2. Scott J.G., Warren W.C., Beukeboom L.W. et al. Genome of the house fly, *Musca domestica* L., a global vector of diseases with adaptations to a septic environment // Genome Biology. 2014. Vol. 15. P. 466.
3. Bass C., Jones C. M. Editorial overview: Pests and resistance: Resistance to pesticides in arthropod crop pests and disease vectors: mechanisms, models and tools // Curr Opin Insect Sci. 2018. Vol. 27. P. iv–vii.

4. Panini M., Manicardi G.C., Moores G.D., Mazzoni E. An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects (Review) // *Invertebrate Survival Journal*. 2016. Vol. 13. P. 326–335.
5. Begum N., Pandey R.S. Impact of *Calotropis procera* and *Annona squamosa* Alcoholic Extracts on Phosphatases and Transaminases Activities in *Musca domestica* // *Natl Acad Sci Lett*. 2017. Vol. 40. P. 153.

References

1. Roslavytseva S.A. Houseflies and control measures against these insects to nowadays. *Pest-Management*. 2011; (1(77)): 23–26. (In Russ.)
2. Scott J.G., Warren W.C., Beukeboom L.W. et al. Genome of the house fly, *Musca domestica* L., a global vector of diseases with adaptations to a septic environment. *Genome Biology*. 2014; (15): 466.
3. Bass C., Jones C. M. Editorial overview: Pests and resistance: Resistance to pesticides in arthropod crop pests and disease vectors: mechanisms, models and tools. *Curr Opin Insect Sci*. 2018; 27: iv-vii.
4. Panini M., Manicardi G.C., Moores G.D., Mazzoni E. An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects (Review). *Invertebrate Survival Journal*. 2016; (13): 326–335.
5. Begum N., Pandey R.S. Impact of *Calotropis procera* and *Annona squamosa* Alcoholic Extracts on Phosphatases and Transaminases Activities in *Musca domestica*. *Natl Acad Sci Lett*. 2017; (40): 153.