

Научная статья

УДК 632.95.025.8:595.773.4

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-449-462>

## Негативная кросс-резистентность к хлорфенапиру у особой пиретроид-устойчивой популяции комнатной мухи

Силиванова Елена Анатольевна<sup>1</sup>, Кинарейкина Анна Григорьевна<sup>2</sup>,  
Нурисламова Алина Райханжановна<sup>3</sup>, Мельничук Анастасия Дмитриевна<sup>4</sup>,  
Маслакова Ксения Юрьевна<sup>5</sup>, Янгирова Лиана Януровна<sup>6</sup>,  
Крестовношина Ксения Сергеевна<sup>7</sup>

<sup>1-7</sup> 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), Тюмень, Россия

<sup>1</sup> [silyvanovaea@mail.ru](mailto:silyvanovaea@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0872-8509>

<sup>2</sup> [kinareickina@yandex.ru](mailto:kinareickina@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3194-873X>

<sup>3</sup> [lfeltnvbh@mail.ru](mailto:lfeltnvbh@mail.ru), <https://orcid.org/0009-0005-4021-2619>

<sup>4</sup> [melnichukad1999@gmail.com](mailto:melnichukad1999@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-3926-4754>

<sup>5</sup> [k.y.maslakova@gmail.com](mailto:k.y.maslakova@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-9688-5207>

<sup>6</sup> [lianayangirova137@gmail.com](mailto:lianayangirova137@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-7546-485X>

<sup>7</sup> [krutko.k.s@hotmail.com](mailto:krutko.k.s@hotmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3607-3706>

### Аннотация

**Цель исследования** – оценить чувствительность к дельтаметрину и про-инсектициду хлорфенапиру у природной популяции *Musca domestica* L. в сравнении с лабораторной культурой Lab UF и установить возможный механизм кросс-резистентности к хлорфенапиру.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на имаго лабораторной культуры Lab UF и природной популяции Nik комнатной мухи *M. domestica*, собранной в животноводческом хозяйстве Тюменской области, где длительное время применяли пиретроидные инсектициды. Токсичность пиретроида дельтаметрина (Дельцид, 4 %) и пиррола хлорфенапира (Пирафен КЭ, 360 г/л) оценивали методом группового кормления взрослых особей. На основании результатов токсикологических опытов рассчитывали летальные концентрации инсектицидов методом пробит-анализа и показатель резистентности. Для выяснения возможного механизма кросс-резистентности к хлорфенапиру у популяции Nik *M. domestica* определяли уровень активности основных ферментов детоксикации в зависимости от пола насекомых. Методом секвенирования по Сэнгеру выполнено исследование на наличие *kdr*-мутации, обеспечивающей резистентность к пиретроидам.

**Результаты и обсуждение.** Установленные летальные концентрации инсектицидов и расчет показателей резистентности продемонстрировали средний уровень резистентности к дельтаметрину и высокую чувствительность к хлорфенапиру популяции Nik. Обнаружено статистически значимое увеличение активности монооксигеназ в 2,25–4,36 раза, глутатион-S-трансферазы в 2,02–2,18, ацетилхолинэстеразы в 1,45–1,46 и альфа-нафтил эстеразы в 1,41–1,46 раза у самок и самцов природной популяции Nik по сравнению с показателями особей лабораторной культуры Lab UF. Методом секвенирования подтверждено наличие *kdr*-мутации (L1014F) в гомо- и гетерозиготном состоянии у особей природной популяции, мутация *kdr-his* (L1014H) не была обнаружена. Полученные результаты позволяют предположить, что у исследованной нами природной популяции *M. domestica* резистентность к дельтаметрину и высокая чувствительность к хлорфенапиру обусловлены наличием L1014F мутации и повышенной активностью P450 монооксигеназ. Негативная кросс-резистентность может быть использована для разработки инсектицидных препаратов, снижающих риск быстрого формирования инсектицидной устойчивости *M. domestica* L.

**Ключевые слова:** инсектицидная кросс-резистентность, метаболическая резистентность, ферменты, детоксикация, *kdr*-мутации, *Musca domestica*, контроль численности вредителей



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.  
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема No FWRZ-2022-0022).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Силиванова Е. А., Кинарейкина А. Г., Нурисламова А. Р., Мельничук А. Д., Маслакова К. Ю., Янгирова Л. Я., Крестовошина К. С. Негативная кросс-резистентность к хлорфенапиру у особей пиретроид-устойчивой популяции комнатной мухи // Российский паразитологический журнал. 2024. Т. 18. № 4. С. 449–462.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-449-462>

© Силиванова Е. А., Кинарейкина А. Г., Нурисламова А. Р., Мельничук А. Д., Маслакова К. Ю., Янгирова Л. Я., Крестовошина К. С., 2024

Original article

## Negative cross-resistance to chlorfenapyr in pyrethroid-resistance house flies

Elena A. Silivanova<sup>1</sup>, Anna G. Kinareikina<sup>2</sup>, Alina R. Nurislamova<sup>3</sup>, Anastasia D. Melnichuk<sup>4</sup>, Kseniya Yu. Maslakova<sup>5</sup>, Liana Ya. Yangirova<sup>6</sup>, Kseniya S. Krestonoshina<sup>7</sup>

<sup>1-7</sup> 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), Tyumen, Russia

<sup>1</sup> [silivanovaea@mail.ru](mailto:silivanovaea@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0872-8509>

<sup>2</sup> [kinareickina@yandex.ru](mailto:kinareickina@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3194-873X>

<sup>3</sup> [lfeltnvbh@mail.ru](mailto:lfeltnvbh@mail.ru), <https://orcid.org/0009-0005-4021-2619>

<sup>4</sup> [melnichukad1999@gmail.com](mailto:melnichukad1999@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-3926-4754>

<sup>5</sup> [k.y.maslakova@gmail.com](mailto:k.y.maslakova@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-9688-5207>

<sup>6</sup> [lianayangirova137@gmail.com](mailto:lianayangirova137@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-7546-485X>

<sup>7</sup> [krutko.k.s@hotmail.com](mailto:krutko.k.s@hotmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-3607-3706>

### Abstract

**The purpose of the research** is to evaluate the susceptibility to deltamethrin and the pro-insecticide chlorfenapyr in a field population of *Musca domestica* L. compared to a laboratory strain Lab UF and to clarify a possible mechanism of cross-resistance to chlorfenapyr.

**Materials and methods.** The study was carried out on the adults of the laboratory strain Lab UF and the field population Nik of the housefly *M. domestica* collected from a livestock farm in the Tyumen region, where pyrethroid insecticides had been used for a long time. The toxicity of the pyrethroid deltamethrin (Delcid, 4%) and the pyrrole chlorfenapyr (Pyrafen EC, 360 g/l) against insects was estimated by the no-choice feeding test. Based on the dose-mortality response, lethal concentrations of insecticides were calculated by the probit analysis and the resistance ratio was determined. To clarify the possible mechanism of cross-resistance to chlorfenapyr in the Nik population of *M. domestica*, the activity of the main detoxification enzymes was determined depending on sex of the insects. In addition, the presence of the *kdr*-mutation providing resistance to pyrethroids was assessed by the Sanger sequencing.

**Results and discussion.** The lethal concentrations of insecticides and the resistance ratios revealed the moderate resistance to deltamethrin and high susceptibility to chlorfenapyr in the field Nik population. A statistically significant increase in the activity of monooxygenases by 2.25–4.36 times, glutathione-S-transferase by 2.02–2.18 times, acetylcholinesterase by 1.45–1.46 times and alpha-naphthyl esterase by 1.41–1.46 times was noted in females and males of the Nik population compared to these parameters of the Lab UF strain. The presence of the *kdr*-mutation (L1014F) in houseflies of the field population was confirmed by the Sanger sequencing, while the *kdr-his* mutation (L1014H) was not detected. The results obtained allow us to suggest that resistance to deltamethrin and high susceptibility to chlorfenapyr in the field population of *M. domestica* are caused by the L1014F mutation and the increased P450 monooxygenase activity. Negative cross-resistance can be used to develop insecticidal formulations that reduce the risk of rapid development of insecticidal resistance in *M. domestica* L.

**Keywords:** insecticide cross-resistance, metabolic resistance, detoxification, enzymes, *kdr*-mutations, *Musca domestica*, pest management

**Acknowledgments.** The research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. FWRZ-2022-0022).

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

**For citation:** Silivanova E. A., Kinareikina A. G., Nurislamova A. R., Melnichuk A. D., Maslakova K. Yu., Yangirova L. Ya., Krestonoshina K. S. Negative cross-resistance to chlorfenapyr in pyrethroid-resistance house flies. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2024; 18(4):449–462. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2024-18-4-449-462>

© Silivanova E. A., Kinareikina A. G., Nurislamova A. R., Melnichuk A. D., Maslakova K. Yu., Yangirova L. Ya., Krestonoshina K. S., 2024

## Введение

Устойчивость членистоногих (насекомых и клещей) – вредителей растений и эктопаразитов человека и животных, представляет серьезную проблему сельского хозяйства и общественного благополучия во всем мире [10, 13, 31]. Контроль численности устойчивых популяций насекомых осложняется широким распространением множественной и перекрестной, или кросс-резистентности [10, 28, 33], означающей устойчивость к двум или нескольким инсектицидным препаратам [6].

Кросс-резистентность между инсектицидами обусловлена общими механизмами устойчивости, чаще всего, метаболическими, связанными с активностью ферментов детоксикации [12]. Теоретический и практический интерес представляет негативная кросс-резистентность (NCR), когда популяция насекомых, толерантная (устойчивая) к одному инсектициду, является сверхчувствительной ко второму инсектициду, а насекомые, гиперчувствительные к первому соединению, толерантны ко второму [26, 27]. Негативная кросс-резистентность описана для различных видов насекомых и химических классов соединений [26, 27, 29]. Использование явления NCR может быть одной из стратегий управления численностью насекомых и клещей [26, 29].

Комнатная муха *Musca domestica* L. – повсеместно распространенное синантропное насекомое, имеющее ветеринарное и медицинское значение<sup>1</sup> [2, 14]. Результаты большого числа исследований свидетельствуют о широкой

представленности устойчивых к инсектицидам популяций комнатной мухи [3, 14, 22, 28]. Описаны примеры перекрестной резистентности у *M. domestica* между разными действующими веществами класса пиретроидов [7], неоникотиноидов [18], между пиретроидами и карбаматами [19] и фосфорорганическими соединениями (ФОС) [22].

Известно также, что у комнатной мухи может формироваться негативная кросс-резистентность. Так, Khan H. A. с соавт. [17], исследуя генетику, перекрестную устойчивость и механизм устойчивости к спиносаду, выявили в результате селекции природной популяции *M. domestica* спиносадом 155-кратную устойчивость к инсектициду-селектанту и отрицательную перекрестную устойчивость к имидаклоприду. Ряд инсектицидных соединений-антагонистов натриевых каналов (дигидропиразолы и родственные соединения) проявляли NCR у высокоустойчивой к пиретроидам линии (супер-*kdr*) *M. domestica* [16]. В работе Соколянской М. П. [6] была проведена оценка возможной кросс-резистентности двух селектированных в течение 30 поколений битоксибациллином линий *M. domestica* к инсектицидам разных классов – фосфорорганическим соединениям, пиретроидам, неоникотиноидам, авермектинам, фенилпиразолам, микробиологическим препаратам. Результаты исследования показали, что кросс-резистентность была невелика (к пиретроидам циперметрин, дельтаметрин и фенвалерат; фенилпиразолу фипронилу), а к

<sup>1</sup> Сивков Г. С., Павлов С. Д., Домацкий В. Н., Глазунов Ю. В., Силиванова Е. А., Эргашев А. А., Левченко М. А., Балабанова Г. Ф., Коротаева О. А., Маслова Е. Н., Подшивалов Д. А. Методические рекомендации по дезинсекции и деакаризации животноводческих объектов ветеринарно-санитарного надзора. Тюмень: Делс, 2010. 45 с.

ряду инсектицидов была отмечена негативная кросс-резистентность (к неоникотиноиду тиаметоксаму, ФОС хлорпирифосу и актеллику, авермектину аверсектину С).

Про-инсектициды обладают потенциалом проявления NCR в силу того, что их биоактивация в организме насекомых осуществляется, как правило, теми же ферментными системами, которые участвуют в детоксикации инсектицидов – P450 монооксигеназами и эстеразами или гидролазами [12]. Одним из про-инсектицидов является хлорфенапир из класса 13 «Разобщители окислительного фосфорилирования посредством разрыва протонного градиента» [31]. Биоактивация хлорфенапира заключается в окислительном удалении N-этоксиметильной группы P450 монооксигеназами с образованием токсичного метаболита тралопирила, который нарушает окислительное фосфорилирование в митохондриях, что приводит к снижению синтеза АТФ и последующей гибели насекомых из-за энергетического голодания клеток [15]. В настоящее время хлорфенапир широко используется как нерепеллентный инсектицид в Америке, Европе, Африке, Тихоокеанском регионе и Среднем Востоке [11], однако достаточно редко применяется в ветеринарной и медицинской дезинсекции в России [4].

Цель данной работы заключалась в оценке чувствительности к про-инсектициду хлорфенапиру и установлении возможного механизма кросс-резистентности к нему у природной пиретроид-устойчивой популяции *M. domestica*.

### Материалы и методы

Объектом исследования служили взрослые особи 3–5-дневного возраста комнатной мухи *M. domestica* двух линий: лабораторной Lab UF, не подвергавшейся воздействию инсектицидами, и природной популяции Nik. Линия Lab UF была получена из Института биохимии и генетики УФИЦ РАН в 2023 г. Особи природной популяции Nik были отловлены в мае-сентябре 2023 г. в животноводческих помещениях Сладковского района Тюменской области, в которых для дезинсекции помещений на протяжении нескольких сезонов

применяли препараты на основе пиретроида дельтаметрина. Культивирование *M. domestica* L. в лабораторных условиях осуществляли в соответствии с принципами содержания лабораторных линий насекомых, рекомендованных ВОЗ [1].

Оценку контактно-кишечного действия инсектицидов (Пирафен КЭ, д. в. хлорфенапир, 360 г/л; Дельцид, д. в. дельтаметрин, 4%) для *M. domestica* осуществляли методом группового кормления мух<sup>2</sup>. Учет гибели насекомых проводили через 24 ч, 48 и 72 ч после воздействия инсектицидом. Насекомых, неспособных к передвижению и полету, относили к погибшим. Результаты токсикологических опытов анализировали методом пробит-анализа для расчета летальных концентраций (ЛК5, ЛК50, ЛК95 – концентрации, при которых погибает соответственно 5%, 50%, 95% подопытных насекомых) с использованием бесплатной версии программы [24]. Отличия двух величин ЛК считали статистически значимыми, если их 95%-ные доверительные интервалы не перекрывались.

Для определения активности ферментов (монооксигеназ, глутатион-S-трансферазы, карбоксилэстеразы, ацетилхолинэстеразы) использовали имаго в возрасте 3–5 сут (с разделением по полу), из которых готовили гомогенаты с использованием гомогенизатора Bioprep-24 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., LTD, Китай), при 4 °С в 0,1 М фосфатном буфере pH 7,6, содержащем 1 мМ EDTA, 1 мМ PТУ, 1 мМ PMSF, 1 мМ DTE. Гомогенаты центрифугировали при 12000 об/мин в течение 2 мин. Полученный супернатант использовали для определения активности ферментов. Содержание белка в гомогенатах определяли фотометрически по методу Лоури [23], используя для построения калибровочного графика растворы бычьего сывороточного альбумина.

Определение активности ферментов выполнено с использованием микропланшетного фотометра Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific Inc., Финляндия) как описано ранее [20]. Функциональную активность монооксигеназ (МО) оценивали методом непрямого определения активности цитохромов P450, или монооксигеназ со смешанной функцией

<sup>2</sup> Руководство Р 4.2.3676-20. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 18.12.2020 г.

по общему содержанию гема при комнатной температуре в режиме конечная точка при 620 нм, используя для построения калибровочного графика растворы цитохрома С из бычьего сердца. Активность глутатион-S-трансферазы (GST) определяли с использованием синтетического субстрата 1-хлор-2,4-динитробензена при длине волны 340 нм в течение 20 мин в режиме «кинетика» при температуре 24–26 °С. Ферментативную активность карбоксилэстеразы (CarEst) определяли по скорости гидролиза трех субстратов ( $\alpha$ -NA,  $\beta$ -NA,  $\rho$ -NPA), активность ацетилхолинэстеразы (AChE) – по скорости гидролиза ацетилтиохолинйодида (ACTH). Оптическую плотность определяли при 405 нм в течение 5 мин. в режиме «кинетика» при температуре 30 °С в случае использования  $\rho$ -NPA и при 540 нм в режиме «конечная точка» при комнатной температуре в случае использовании субстратов  $\alpha$ -NA и  $\beta$ -NA. Активность ацетилхолинэстеразы определяли при длине волны 405 нм в течение 30 мин. в режиме «кинетика» при температуре 30 °С.

Выделение геномной ДНК из особей природной популяции Nik и лабораторной культуры Lab UF выполнено с помощью набора «ДНК-экстран II» (СИНТОЛ, кат. номер EX-511) по инструкции производителя. Для наработки фрагментов гена *vssc* (voltage-sensitive sodium channel, потенциал-зависимых натриевых каналов) были использованы праймеры: F AGCTGTATACCCTTCTTCT; R CGAAGTTGGACAAAAGCAAA. Нарботку ампликона проводили на готовой реакционной смеси (СИНТОЛ, кат. номер М-248) по следующей циклограмме: преинкубация при 95 °С в течение 5 мин.; 30 циклов денатурация при 95 °С в течение 10 с, отжиг при 60 °С в течение 20 с и элонгация при 72 °С в течение 45 с; заключительная элонгация при 72 °С в течение трех минут. Очистку ампликонов после реакции выполняли спиртовым переосаждением в присутствии ацетата калия. Полученные фрагменты гена *vssc* 6 особей природной популяции Nik и 5 особей лабораторной культуры Lab UF были секвенированы по методу Сэнгера. Секвенирование проведено на анализаторе Applied Biosystems™ 3500xL с использованием BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™). Анализ полученных хроматограмм и нуклеотидных последовательностей выполнен с помощью программ FinchTV и Clustal Omega.

## Результаты

*Токсичность дельцида и хлорфенапира для лабораторной культуры и природной популяции.* Расчетные величины летальных концентраций дельтаметрина и хлорфенапира и показателей резистентности к инсектицидам для имаго природной популяции Nik и лабораторной культуры Lab UF приведены в таблице 1. Согласно полученным результатам, летальные концентрации ЛК5, ЛК50 и ЛК95 дельтаметрина для самок и самцов природной популяции были статистически значимо выше, чем для особей лабораторной культуры. Показатель резистентности к дельтаметрину у природной популяции составил для самок 10,3 и 29,7 при учете через 48 и 72 ч, соответственно, для самцов – 37,7 и 59,5 через 48 и 72 ч, соответственно. Летальные концентрации хлорфенапира для имаго природной популяции были ниже, чем для особей лабораторной культуры. Статистическая значимость выявлена только в отношении ЛК50 для самок и ЛК95 для самок и самцов. Показатели резистентности составили 0,4 и 0,6 для самок и самцов соответственно при учете через 72 ч.

*Активность ферментов детоксикации.* У самок и самцов природной популяции Nik выявлено статистически значимое увеличение активности монооксигеназ (в 4,36 и 2,25 раза, соответственно), глутатион-S-трансферазы (в 2,18 и 2,02 раза), ацетилхолинэстеразы (в 1,45 и 1,46 раза) и альфа-нафтил эстеразной активности (в 1,41 и 1,46 раза) по сравнению с показателями особей лабораторной культуры Lab UF (табл. 2). Обнаружен половой диморфизм в активности неспецифических эстераз и ацетилхолинэстеразы у особей обеих популяций. Согласно критерию Манна-Уитни у самцов Lab UF и Nik активность CarEst была ниже, соответственно, в 2,26 и 1,61 раза, а активность AChE выше в 1,33 и 1,33 раза, чем у самок.

*Результаты секвенирования.* Из 6 проанализированных особей природной популяции Nik у 4 особей выявлена мутация L1014F, у двух из них в гетерозиготном состоянии (рис. 1, 2). У особей лабораторной культуры LabUF данная мутация не обнаружена (рис. 2). У проанализированных представителей LabUF и Nik мутация L1014H не обнаружена.

Таблица 1  
Токсичность хлорфенапира (Pirafen КЭ, 360 г/л) и дельтаметрина (Дельцид, 4%) для имаго *Musca domestica* лабораторной культуры (Lab UF) и природной популяции (Nik)

Table 1  
Toxicity of chlorfenapyr (Pirafen EC, 360 g/l) and deltamethrin (Deldid, 4%) to adults *Musca domestica* of the laboratory strain (Lab UF) and the field population (Nik)

| Линия  | Инсектицид   | Пол   | Время, ч | ЛК5 (СІ, 95%), мкг д.в./г сахара | ЛК50 (СІ, 95%), мкг д.в./г сахара | ЛК95 (СІ, 95%), мкг д.в./г сахара | Slope±SE    | χ2    | df | ПР   |
|--------|--------------|-------|----------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------|-------|----|------|
| Lab UF | Дельтаметрин | Самки | 24       | 0,047 (0,022-0,099)              | 1,533 (0,721-3,260)               | -                                 | 1,104±0,167 | 0,198 | 3  | -    |
|        |              |       | 48       | 0,020 (0,011-0,036)              | 0,377 (0,213-0,668)               | 7,070 (3,989-12,528)              | 1,312±0,127 | 0,504 | 5  | -    |
|        |              |       | 72       | 0,014 (0,094-0,022)              | 0,124 (0,081-0,190)               | 1,071 (0,701-1,635)               | 1,829±0,094 | 0,508 | 6  | -    |
|        |              | Самцы | 24       | 0,009 (0,004-0,017)              | 0,587 (0,298-1,156)               | -                                 | 1,056±0,150 | 0,169 | 5  | -    |
|        |              |       | 48       | 0,005 (0,003-0,009)              | 0,124 (0,072-0,215)               | 2,850 (1,648-4,930)               | 1,232±0,121 | 0,900 | 6  | -    |
|        |              |       | 72       | 0,007 (0,005-0,010)              | 0,055 (0,036-0,082)               | 0,441 (0,293-0,662)               | 1,834±0,090 | 0,958 | 6  | -    |
|        | Хлорфенапир  | Самки | 24       | 0,789 (0,443-1,405)              | 18,191 (10,21-32,41)              | 419,6 (235,5-747,6)               | 1,329±0,128 | 0,536 | 7  | -    |
|        |              |       | 48       | 0,464 (0,284-0,758)              | 6,152 (3,763-10,058)              | 81,64 (49,93-133,48)              | 1,532±0,109 | 0,539 | 6  | -    |
|        |              |       | 72       | 0,363 (0,228-0,578)              | 3,776 (2,371-6,013)               | 39,25 (24,65-62,51)               | 1,638±0,103 | 0,719 | 6  | -    |
|        |              | Самцы | 24       | 0,421 (0,263-0,672)              | 4,394 (2,748-7,024)               | 45,90 (28,71-73,39)               | 1,692±0,104 | 0,921 | 6  | -    |
| Nik    |              |       | 48       | 0,216 (0,136-0,345)              | 2,426 (0,521-3,870)               | 27,19 (17,04-43,37)               | 1,666±0,103 | 0,953 | 6  | -    |
|        |              |       | 72       | 0,094 (0,056-0,158)              | 1,363 (0,812-2,289)               | 19,72 (11,75-33,13)               | 1,534±0,115 | 0,759 | 5  | -    |
|        | Дельтаметрин | Самки | 24       | 0,477 (0,316-0,720)*             | 4,028 (2,668-6,081)               | 34,002 (22,522-51,333)            | 2,030±0,091 | 0,117 | 4  | 2,6  |
|        |              |       | 48       | 0,457 (0,300-0,698)*             | 3,880 (2,542-5,922)*              | 32,923 (21,569-50,255)*           | 1,932±0,094 | 0,224 | 3  | 10,3 |
|        |              |       | 72       | 0,454 (0,299-0,691)*             | 3,687 (2,423-5,611)*              | 29,921 (19,665-45,527)*           | 1,956±0,093 | 0,232 | 3  | 29,7 |
|        |              | Самцы | 24       | 0,180 (0,104-0,312)*             | 5,625 (3,248-9,742)*              | -                                 | 1,275±0,122 | 0,366 | 7  | 9,6  |
|        |              |       | 48       | 0,222 (0,136-0,363)*             | 4,679 (2,861-7,654)*              | 98,758 (60,380-161,531)*          | 1,489±0,109 | 0,228 | 6  | 37,7 |
|        |              |       | 72       | 0,158 (0,097-0,257)*             | 3,273 (2,011-5,327)*              | 67,839 (41,676-110,426)*          | 1,500±0,108 | 0,237 | 7  | 59,5 |
|        | Хлорфенапир  | Самки | 24       | 0,419 (0,211-0,832)              | 8,177 (4,119-16,23)               | 159,6 (80,38-316,9)               | 1,428±0,152 | 0,007 | 3  | 0,4  |
|        |              |       | 48       | 0,308 (0,203-0,467)              | 1,908 (1,257-2,896)*              | 11,84 (7,801-17,97)*              | 2,186±0,092 | 0,187 | 3  | 0,3  |
|        |              |       | 72       | 0,172 (0,109-0,274)              | 1,373 (0,865-2,180)*              | 10,94 (6,893-17,37)*              | 1,840±0,102 | 0,192 | 3  | 0,4  |
|        |              |       | 24       | 0,494 (0,325-0,750)              | 2,649 (1,745-4,019)               | 14,19 (9,351-21,53)*              | 2,296±0,092 | 0,004 | 2  | 0,6  |
|        |              |       | 48       | 0,276 (0,192-0,398)              | 1,178 (0,818-1,698)               | 5,028 (3,489-7,246)*              | 2,614±0,081 | 0,671 | 2  | 0,5  |
|        |              |       | 72       | 0,065 (0,038-0,111)              | 0,810 (0,476-1,377)               | 10,02 (5,892-17,04)               | 1,535±0,118 | 0,096 | 2  | 0,6  |

Примечание. [Note]. CI, 95% - 95%-ный доверительный интервал; Slope - характеристика линии регрессии, характеризующая угол наклона; SE - стандартная ошибка; χ2 - критерий хи-квадрат; df - число степеней свободы; ПР - показатель резистентности, рассчитан как отношение ЛК50 исследуемой линии к ЛК50 чувствительной линии (Lab UF); \* - отличия статистически значимы по сравнению с аналогичным показателем линии Lab UF; P < 0,05 [CI, 95% - 95% confidence interval; Slope - characteristic of the regression line, characterizing the slope; SE - standard error; χ2 - χ2 criterion; df - number of degrees of freedom; PR - resistance index, calculated as the ratio of LC50 of the studied line to LC50 of the sensitive line (Lab UF); \* - differences are statistically significant compared to the same indicator of the Lab UF line, P < 0.05]

Таблица 2

Удельная активность ферментов детоксикации у имаго *Musca domestica* лабораторной культуры Lab UF и природной популяции Nik ( $m \pm SD$ )

Table 2

Activities of detoxification enzymes in *Musca domestica* adults of the laboratory strain (Lab UF) and the field population (Nik)

|        | Моноксигеназы,<br>мкг цитохрома<br>С/мг белка | Неспецифические эстеразы                         |                                 |                                 | Ацетилхолинэ-<br>стераза, ΔOD/<br>мин/мг белка | Глутатион-S-<br>трансфераза,<br>ΔOD/мин/<br>мг белка |
|--------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|        |                                               | CarEst, ΔOD/<br>мин/мг белка<br>(субстрат p-NPA) | αEst, мкг α-NA/<br>мин/мг белка | βEst, мкг β-NA/<br>мин/мг белка |                                                |                                                      |
| Lab UF |                                               |                                                  |                                 |                                 |                                                |                                                      |
| Самки  | 0,733±0,405                                   | 0,647±0,173                                      | 1,954±0,195                     | 1,836±0,317                     | 0,622±0,096                                    | 1,942±0,154                                          |
| Самцы  | 1,137±0,579                                   | 0,286±0,197#                                     | 2,106±0,236                     | 1,901±0,223                     | 0,825±0,088#                                   | 1,868±0,136                                          |
| Nik    |                                               |                                                  |                                 |                                 |                                                |                                                      |
| Самки  | 3,196±0,965*                                  | 0,339±0,101*                                     | 2,757±0,389*                    | 1,833±0,264                     | 0,904±0,123*                                   | 4,237±0,664*                                         |
| Самцы  | 2,561±0,496*                                  | 0,210±0,049#                                     | 3,141±0,784*                    | 1,895±0,308                     | 1,205±0,220*#                                  | 3,782±0,582*                                         |

Примечание. [Note]. SD - стандартное отклонение; OD - оптическая плотность; p-NPA - пара-нитрофенил ацетат,  $\alpha$ -NA - 1-нафтилацетат,  $\beta$ -NA - 2-нафтилацетат; \* - отличия статистически значимы по сравнению с аналогичным показателем линии Lab UF,  $P < 0,05$ ; # - отличия статистически значимы в зависимости от пола [SD - standard deviation; OD - optical density; p-NPA - para-nitrophenyl acetate,  $\alpha$ -NA - 1-naphthyl acetate,  $\beta$ -NA - 2-naphthyl acetate; \* - differences are statistically significant compared to the same indicator of the Lab UF line,  $P < 0.05$ ; # - differences are statistically significant depending on gender]

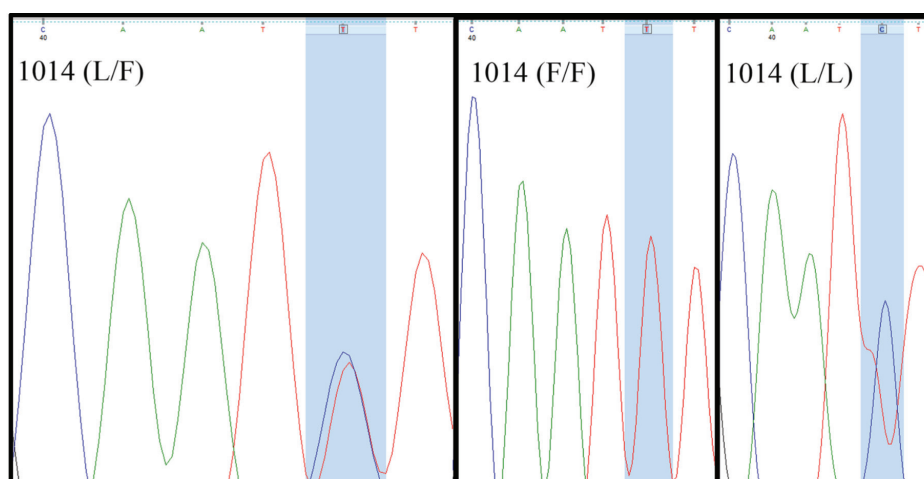


Рис. 1. Примеры хроматограмм, полученных после секвенирования по Сэнгеру:

а) замена цитозина на тимин в гетерозиготном состоянии; б) замена цитозина на тимин в гомозиготном состоянии; в) отсутствие замены (дикий тип)

Fig. 1. Examples of chromatograms obtained after Sanger sequencing:

а) replacement of cytosine with thymine in the heterozygous; б) replacement of cytosine with thymine in the homozygous; в) no replacement (wild type)

## Обсуждение

Из опубликованных исследований известно о негативной кросс-резистентности у *M. domestica* между инсектицидами разных химических групп [6, 17, 18]. Сообщалось также, что про-инсектициды, к которым относится

хлорфенапир, демонстрируют NCR в особенности на популяциях насекомых, у которых инсектицидная устойчивость обусловлена метаболическими механизмами [12]. Метаболическая резистентность, когда у устойчивых особей наряду с возможной нечувствитель-



**Рис. 2.** Участок нуклеотидных последовательностей гена *vssc*, полученных после секвенирования и выравнивания, с местом точечной мутации L1014F:

LabUF – особи лабораторной культуры; Nik – особи природной популяции; Y – нуклеотид Т или С

**Fig. 2.** The part of nucleotide sequences of the *vssc* gene obtained after sequencing and alignment, with the site of the point mutation L1014F:

LabUF – laboratory strain; Nik – field population; Y – T or C nucleotide

ностью молекулярной мишени повышается активность ферментов детоксикации, развивается ко многим инсектицидам, включая пиретроиды [13, 22].

В недавнем исследовании на переносчиках малярии *Anopheles gambiae* и *An. funestus* было обнаружено, что пиретроид-устойчивые особи были более чувствительны к хлорфенапиру [32]. В связи со сказанным в данной работе оценивали кросс-резистентность между пиретроидом дельтаметрином и хлорфенапиром, а также активность основных ферментов детоксикации и наличие *kdr*-мутации у особей природной популяции *M. domestica* из животноводческого хозяйства, где длительно применяли пиретроиды.

Для характеристики уровня резистентности к дельтаметрину и хлорфенапиру использовали показатель резистентности (ПР), рассчитанный как соотношение ЛК50 для природной популяции и лабораторной культуры, и ориентировались на шкалу, рекомендованную Роспотребнадзором: ПР < 1 – насекомые высокочувствительны к инсектициду;

ПР = 1–2 – чувствительны; ПР = 3–10х – толерантны; ПР = 11х–30х – средне резистентны; ПР = 31х–100х – высоко резистентны; ПР > 100х – экстремально высоко резистентны<sup>3</sup>.

Согласно результатам, приведенным в таблице 1, показатель резистентности к дельтаметрину составил для самок 10,3 и 29,7 при учете через 48 и 72 ч, соответственно, для самцов – 37,7 и 59,5 через 48 и 72 ч, соответственно. Принимая во внимание отличия ПР в зависимости от пола и времени учета гибели насекомых, природную популяцию Nik можно считать средне резистентной к дельтаметрину. Поскольку хлорфенапир является проинсектицидом и для проявления токсичности требуется время для его метаболизма, ВОЗ рекомендовано оценивать его инсектицидное действие через 72 ч после экспозиции<sup>4</sup>, поэтому в нашей работе учитывали ПР, рассчитанный через 72 ч. Как и предполагалось, ранее не применявшийся против популяции Nik хлорфенапир оказался более токсичен как для самок, так и для самцов, и в соответствии со значением ПР данная популяция является высокочувствительной к хлорфенапиру.

<sup>3</sup> Руководство Р 4.2.3676-20. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 18.12.2020 г.

<sup>4</sup> World Health Organization. Manual for monitoring insecticide resistance in mosquito vectors and selecting appropriate interventions. Geneva: World Health Organization, 2022. Available from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/356964>.

Полученные результаты сопоставимы с данными исследований других авторов. Так, высоко (ПР = 75) и экстремально высоко устойчивые (ПР = 500х-900х) к пиретроиду циперметрину популяции комнатной мухи из Московской и Калужской областей оказались высокочувствительными (ПР = 0,25-0,75) к хлорфенапиру [3].

Li с соавт. (2018), оценивая резистентный профиль природной популяции комнатных мух (Gol-RR) из провинции Цинхай в Китае, обнаружили, что указанная популяция была высоко устойчива к карбамату пропоксуру, циперметрину, неоникотиноиду имидаклоприду (ПР >1219,51, 153,17, >35,43, соответственно), толерантна к оксадиазину индоксикарбу и ФОС хлорпирифосу (ПР = 6,12 и 3,24, соответственно), чувствительна к фипронилу (ПР = 1,73) и высокочувствительна к хлорфенапиру (ПР = 0,86) [21].

Хорошо известный механизм, лежащий в основе резистентности к пиретроидам, заключается в ускорении детоксикации (разрушении молекулы инсектицида и выведении из организма образовавшихся метаболитов) за счет повышенной активности ферментов P450 монооксигеназ и гидролаз [5, 10, 22]. Согласно полученным результатам (табл. 2), как самки, так и самцы природной пиретроид-устойчивой популяции Nik характеризовались повышенным уровнем активности основных ферментов детоксикации относительно особей лабораторной культуры: P450 монооксигеназ, глутатион-S-трансферазы, ацетилхолинэстеразы и альфа-нафтил эстеразы. Более всего была повышена активность монооксигеназ (в 4,36 и 2,25 раза у самок и самцов, соответственно) и глутатион-S-трансферазы (в 2,18 и 2,02 раза у самок и самцов).

Аналогичные результаты были получены при исследовании популяций *M. domestica* из разных провинций Ирана: особи высоко резистентных к пиретроидам (перметрину, дельтаметрину, циперметрину) популяций проявили повышенную активность монооксигеназ (в 1,72–2,50 раза), глутатион-S-трансферазы (в 2,91–5,23 раза) и альфа-нафтил эстеразы (в 1,26–3,70 раза) [8].

Ранее установлено, что у комнатной мухи устойчивость к пиретроидам, основанная на активации P450 монооксигеназ, обеспечивается повышенной экспрессией *CYP6D1* [30],

*CYP6A5v2* [34], *CYP6A36* [35] и, возможно, других CYPs [30]. Поскольку известно, что хлорфенапир в организме насекомых подвергается биоактивации P450 монооксигеназами [15], вероятно, высокая чувствительность к хлорфенапиру у особей популяции Nik обусловлена обнаруженной у них повышенной активностью P450 монооксигеназ по сравнению с насекомыми лабораторной культуры Lab UF.

Основным молекулярно-генетическим механизмом резистентности к пиретроидам является нечувствительность целевого участка из-за мутаций в потенциалзависимом натриевом канале (нокдаун-резистентность или *kdr*) [5, 14].

Впервые развитие устойчивости к пиретроидам *kdr*-типа было зарегистрировано у *M. domestica* в 1950-х годах. В литературе описаны пять аллелей, отвечающих за нечувствительность мишени и, следовательно, устойчивость насекомых к пиретроидам: *kdr-his* (L1014H), *kdr* (L1014F), *super-kdr* (M929T+L1014F), Type N (D600N+M918T+L1014F) и 1B (T929I+L1014F) [14]. Наиболее часто исследуют распространение первых двух мутаций (L1014F и L1014H) [5, 8, 14]. Мутация L1014F (замена аминокислоты лейцина на фенилаланин) возникает в результате замены цитозина (C) на тимин (T), мутация L1014H (замена аминокислоты лейцина на гистидин) – в результате замены тимина (T) на аденин (A) в соответствующих положениях кодирующего участка гена *vssc*.

В нашем исследовании у особей лабораторной культуры Lab UF мутации L1014F и L1014H не были обнаружены, а у особей природной популяции Nik методом секвенирования было подтверждено наличие одной мутации, L1014F, в гомо- и гетерозиготном состоянии, чем вероятно, и объясняется средний уровень резистентности к дельтаметрину.

Полученный нами результат сопоставим с результатами ранее упомянутого исследования Ahmadi с соавт. (2020), согласно которому все пиретроид-резистентные популяции *M. domestica* были носителями мутации L1014F, а мутация L1014H не была выявлена [8]. На основании результатов авторы пришли к заключению, что L1014F-*kdr* мутация может быть основным механизмом развития резистентности к пиретроидам в иранских популяциях *M. domestica* [8].

Интересно, что в недавнем исследовании Tchoaukui с соавт. (2023) обнаружили отрицательную связь между наличием L1014F-*kdr* мутации и резистентностью к хлорфенапиру у *An. gambiae* и *An. funestus*, однако, мутации в гене *GSTe2* глутатион-S-трансферазы, обеспечивающие устойчивость к пиретроидам и ДДТ, не влияли на способность москитов выживать после воздействия хлорфенапира [32].

### Заключение

В результате токсикологических и биохимических исследований выявлен средний уровень резистентности к пиретроиду дельтаметрину и высокая степень чувствительности к хлорфенапиру у природной популяции *M. domestica* с повышенной активностью основных ферментов детоксикации. Совокупность полученных и литературных данных позволяет предположить, что у исследованных нами насекомых резистентность к дельтаметрину и высокая чувствительность к хлорфенапиру связаны в большей степени с наличием L1014F мутации и повышенной активностью P450 монооксигеназ. Проявление негативной кросс-резистентности к хлорфенапиру у устойчивой к дельтаметрину популяции комнатной мухи может быть использовано для разработки инсектицидных препаратов, снижающих риск быстрого формирования инсектицидной устойчивости *M. domestica* L.

### Список источников

1. Беньковская Г. В. Принципы содержания лабораторных линий насекомых // Биомика. 2017. Т. 9, № 1. С. 24-32.
2. Давлианидзе Т. А., Еремина О. Ю. Санитарно-эпидемиологическое значение и резистентность к инсектицидам природных популяций комнатной мухи *Musca domestica* // Вестник защиты растений. 2021. Т. 104. № 2. С. 72-86. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-2-14984>
3. Давлианидзе Т. А., Еремина О. Ю., Олифер В. В. Резистентность к инсектицидам комнатной мухи *Musca domestica* в центре европейской части России // Вестник защиты растений. 2022. Т. 105. № 3. С. 114-121. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-3-15346>
4. Еремина О. Ю. Хлорфенапир – перспективный инсектицид из группы пирролов для борьбы с резистентными синантропными насекомыми // Пест-Менеджмент. 2017. № 1 (101). С. 41-49.
5. Еремина О. Ю., Лопатина Ю. В. Молекулярно-генетические механизмы резистентности к инсектицидам у насекомых // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017. Т. 4. С. 44-52.
6. Соколянская М. П. Кросс-резистентность устойчивых к битоксибациллину линий комнатной мухи *Musca domestica* // Вестник защиты растений. 2018. № 1 (95). С. 57-60.
7. Abbas N., Hafez A. M. Alpha-Cypermethrin Resistance in *Musca domestica*: Resistance Instability, Realized Heritability, Risk Assessment, and Insecticide Cross-Resistance. *Insects*. 2023; 14: 233. <https://doi.org/10.3390/insects14030233>
8. Ahmadi E., Khajehali J., Rameshgar F. Evaluation of resistance to permethrin, cypermethrin and deltamethrin in different populations of *Musca domestica* (L.), collected from the Iranian dairy cattle farms. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2020; 23 (2): 277-284. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.01.014>.
9. Basit M. Status of insecticide resistance in *Bemisia tabaci*: resistance, cross-resistance, stability of resistance, genetics and fitness costs. *Phytoparasitica*. 2019; 47: 207-225. <https://doi.org/10.1007/s12600-019-00722-5>
10. Bass C., Jones C. M. Editorial overview: Pests and resistance: Resistance to pesticides in arthropod crop pests and disease vectors: mechanisms, models and tools. *Current Opinion in Insect Science*. 2018; 27: iv-vii. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.04.009>
11. Chien S.-C., Chien S.-C., Su Y.-J. A fatal case of chlorfenapyr poisoning and a review of the literature. *Journal of International Medical Research*. 2022; 50: 1-7. <https://doi.org/10.1177/03000605221121965>
12. David M. D. The potential of pro-insecticides for resistance management. *Pest Management Science*. 2021; 77: 3631-3636. <https://doi.org/10.1002/ps.6369>
13. De Rouck S., Inak E., Dermauw W., Van Leeuwen T. A review of the molecular mechanisms of acaricide resistance in mites and ticks. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2023; 159: 103981. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2023.103981>
14. Freeman J. C., Ross D. H., Scott J. G. Insecticide resistance monitoring of house fly populations from the United States. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2019; 158: 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.006>
15. Huang P., Yan X., Yu B., He X., Lu L., Ren Y. A. Comprehensive Review of the Current Knowledge of Chlorfenapyr: Synthesis, Mode of Action, Resistance, and Environmental Toxicology.

- Molecules. 2023; 28: 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules28227673>
16. *Khambay B., Carlson G. R., Denholm I., Jacobson R. M.* Rapid report: Negative cross-resistance between dihydropyrazole insecticides and pyrethroids in houseflies, *Musca domestica*. *Pest Management Science*. 2001; 57 (9): 761-763. <https://doi.org/10.1002/ps.381>
  17. *Khan H. A., Akram W., Shad S. A.* Genetics, cross-resistance and mechanism of resistance to spinosad in a field strain of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Acta Tropica*. 2014; 130: 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.11.006>
  18. *Khan H. A. A., Akram W., Iqbal J., Naeem-Ullah U.* Thiamethoxam Resistance in the House Fly, *Musca domestica* L.: Current Status, Resistance Selection, Cross-Resistance Potential and Possible Biochemical Mechanisms. *PLoS ONE*. 2015; 10 (5): e0125850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125850>
  19. *Khan H. A. A.* Resistance risk assessment, cross-resistance potential and realized heritability of resistance to methomyl in *Musca domestica* Linnaeus. *Ecotoxicology*. 2024; 33: 226–234. <https://doi.org/10.1007/s10646-024-02742-2>
  20. *Kinareikina A., Silivanova E.* Impact of Insecticides at Sublethal Concentrations on the Enzyme Activities in Adult *Musca domestica* L. *Toxics*. 2023; 11: 47. <https://doi.org/10.3390/toxics11010047>
  21. *Li Q., Huang J., Yuan J.* Status and preliminary mechanism of resistance to insecticides in a field strain of housefly (*Musca domestica*, L). *Revista Brasileira de Entomologia*. 2018; 62 (4): 311-314. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.09.003>
  22. *Liu N., Yue X.* Insecticide resistance and cross-resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*. 2000; 93 (4): 1269-1275. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.4.1269>
  23. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193 (1): 265-275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
  24. *Mekapogu A. R.* Finney's probit analysis spreadsheet calculator. 2021; URL: <https://probitanalysis.wordpress.com/>
  25. *Pittendrigh B. R., Huesing J. E., Margam V. M., Sun L.* Negative Cross Resistance: past present and potential for the future. In book: *Insect Resistance Management: Biology, Economics, and Prediction* Publisher: Academic Press Editors: David W. Onstad. 2007; (pp.107-134) <https://doi.org/10.1016/b978-012373858-5.50008-3>
  26. *Pittendrigh B. R., Huesing J., Walters K. R., Olds B. P., Steele L. D., Sun L., Gaffney P., Gassmann A. J.* Chapter 11 – Negative Cross-Resistance: History, Present Status, and Emerging Opportunities. In *Insect Resistance Management (Second Edition)*, Editor(s): David W. Onstad, Academic Press, 2014; 373-401. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396955-2.00011-4>
  27. *Pittendrigh B. R., Gaffney P., Murdock L. L.* Deterministic modeling of negative cross-resistance strategies for use in transgenic host-plant resistance. *Journal of Theoretical Biology*. 2000; 204 (1): 135-150. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.2006>
  28. *Qu R., Zhu J., Li M., Jashenko R., Qiu X.* Multiple Genetic Mutations Related to Insecticide Resistance are Detected in Field Kazakhstani House Flies (Muscidae: Diptera). *Journal of Medical Entomology*. 2021; 58: 2338-2348. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab110>
  29. *Rodrigues-Silva N., Canuto A. F., Oliveira D. F., Teixeira A. F., Santos-Amaya O. F., Picanço M. C., Pereira E. J. G.* Negative cross-resistance between structurally different *Bacillus thuringiensis* toxins may favor resistance management of soybean looper in transgenic Bt cultivars. *Scientific Reports*. 2019; 9: 199. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35965-5>
  30. *Scott J. G.* Evolution of resistance to pyrethroid insecticides in *Musca domestica*. *Pest Management Science*. 2017; 73: 716-722. <https://doi.org/10.1002/ps.4328>
  31. *Sparks T. C., Crossthwaite A. J., Nauen R., Banba S., Cordova D., Earley F., Ebbinghaus-Kintscher U., Fujioka S., Hirao A., Karmon D., Kennedy R., Nakao T., Popham H. J. R., Salgado V., Watson G. B., Wedel B. J., Wessels F. J.* Insecticides, biologics and nematocides: Updates to IRAC's mode of action classification – a tool for resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2020; 167: 104587. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104587>
  32. *Tchouakui M., Assatse T., Tazokong H. R., Oruni A., Menze B. D., Nguiffo-Nguete D., Mugenzi L. M. J., Kayondo J., Watsenga F., Mzilahowa T., Osae M., Wondji C. S.* Detection of a reduced susceptibility to chlorfenapyr in the malaria vector *Anopheles gambiae* contrasts with full susceptibility in *Anopheles funestus* across Africa. *Scientific Reports*. 2023; 13: 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29605-w>
  33. *Wang Q., Rui C., Wang L., Nahiyoon S. A., Huang W., Zhu J., Ji X., Yang Q., Yuan H., Cui L.* Field-evolved resistance to 11 insecticides and the mechanisms involved in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*. 2021; 77: 5086-5095. <https://doi.org/10.1002/ps.6548>

34. Zhu F., Liu N. Differential expression of CYP6A5 and CYP6A5v2 in pyrethroid-resistant house flies, *Musca domestica*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2008; 67: 107-119. <https://doi.org/10.1002/arch.20225>
35. Zhu F., Feng J. N., Zhang L., Liu N. Characterization of two novel cytochrome P450 genes in insecticide-resistant house-flies. *Insect Molecular Biology*. 2008; 17: 27-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2008.00777.x>

Статья поступила в редакцию 10.07.24; одобрена после рецензирования 03.11.24; принята к публикации 07.11.24

Об авторах:

**Силиванова Елена Анатольевна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых; SPIN-код: 2036-6650, Researcher ID: C-8266-2015, Scopus ID: 57203024713.

**Кинарейкина Анна Григорьевна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых; SPIN-код: 4783-9147, Researcher ID: AFK-9864-2022, Scopus ID: 58076407400.

**Нурисламова Алина Райханжановна**, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых.

**Мельничук Анастасия Дмитриевна**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых; SPIN-код: 7690-7070, Researcher ID: HJG-5175-2022.

**Маслакова Ксения Юрьевна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых; SPIN-код: 8761-2244.

**Янгирова Лиана Януровна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии насекомых; SPIN-код: 1163940, Researcher ID: HHN-5767-2022.

**Крестоношина Ксения Сергеевна**, зав. лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии насекомых; SPIN-код: 2386-5329, Researcher ID: AFM-4923-2022

Вклад авторов:

Силиванова Е. А. – концептуализация и дизайн исследования, сбор насекомых, определение активности ферментов, критический анализ результатов токсикологических и биохимических исследований, интерпретация данных, подготовка и оформление рукописи.

Кинарейкина А. Г. – выполнение токсикологических тестов, анализ полученных данных, подготовка рукописи.

Нурисламова А. Р. – культивирование насекомых, выполнение токсикологических тестов.

Мельничук А. Д. – выделение ДНК, постановка ПЦР, анализ и интерпретация результатов секвенирования.

Маслакова К. Ю. – биохимические исследования, подготовка рукописи.

Янгирова Л. Я. – статистическая обработка результатов.

Крестоношина К. С. – выделение ДНК, определение концентрации геномной ДНК, постановка ПЦР, анализ полученных результатов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

## References

1. Ben'kovskaya G. V. Principles of Maintenance of Laboratory Insect Lines. *Biomika = Biomics*. 2017; 9 (1): 24-32. (In Russ.)
2. Davlianidze T. A., Eremina O. Yu. Sanitary and epidemiological significance and resistance to insecticides in the housefly *Musca domestica*. *Vestnik zashchity rastenii = Plant Protection News*. 2021; 104 (2): 72-86. (In Russ.) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-2-14984>
3. Davlianidze T. A., Eremina O. Yu., Olifer V. V. Resistance to insecticides of housefly *Musca domestica* in the center of the European part of Russia. *Vestnik zashchity rastenii = Plant Protection News*. 2022; 105 (3): 114-121. (In Russ.) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-3-15346>
4. Eremina O. Yu. Chlorfenapyr is a promising insecticide from the pyrrole group for the control of resistant synanthropic insects. *Pest-Menedzhment = Pest Management*. 2017; 1 (101): 41-49. (In Russ.)
5. Eremina O. Yu., Lopatina Yu. V. Molecular genetic mechanisms of insecticide resistance in insects. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical parasitology and parasitic diseases*. 2017; 4: 44-52. (In Russ.)
6. Sokolyanskaya M. P. Cross-resistance of bitoxibacillin-resistant strains of the housefly *Musca domestica*. *Vestnik zashchity rastenii = Plant Protection News*. 2018; 1 (95): 57-60. (In Russ.)
7. Abbas N., Hafez A. M. Alpha-Cypermethrin Resistance in *Musca domestica*: Resistance Instability, Realized Heritability, Risk Assessment,

- and Insecticide Cross-Resistance. *Insects*. 2023; 14: 233. <https://doi.org/10.3390/insects14030233>
8. Ahmadi E., Khajehali J., Rameshgar F. Evaluation of resistance to permethrin, cypermethrin and deltamethrin in different populations of *Musca domestica* (L.), collected from the Iranian dairy cattle farms. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2020; 23 (2): 277-284. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.01.014>.
  9. Basit M. Status of insecticide resistance in *Bemisia tabaci*: resistance, cross-resistance, stability of resistance, genetics and fitness costs. *Phytoparasitica*. 2019; 47: 207-225. <https://doi.org/10.1007/s12600-019-00722-5>
  10. Bass C., Jones C. M. Editorial overview: Pests and resistance: Resistance to pesticides in arthropod crop pests and disease vectors: mechanisms, models and tools. *Current Opinion in Insect Science*. 2018; 27: iv-vii. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.04.009>
  11. Chien S.-C., Chien S.-C., Su Y.-J. A fatal case of chlorfenapyr poisoning and a review of the literature. *Journal of International Medical Research*. 2022; 50: 1-7. <https://doi.org/10.1177/03000605221121965>
  12. David M. D. The potential of pro-insecticides for resistance management. *Pest Management Science*. 2021; 77: 3631-3636. <https://doi.org/10.1002/ps.6369>
  13. De Rouck S., Īnak E., Dermauw W., Van Leeuwen T. A review of the molecular mechanisms of acaricide resistance in mites and ticks. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2023; 159: 103981. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2023.103981>
  14. Freeman J. C., Ross D. H., Scott J. G. Insecticide resistance monitoring of house fly populations from the United States. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2019; 158: 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.006>
  15. Huang P., Yan X., Yu B., He X., Lu L., Ren Y. A. Comprehensive Review of the Current Knowledge of Chlorfenapyr: Synthesis, Mode of Action, Resistance, and Environmental Toxicology. *Molecules*. 2023; 28: 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules28227673>
  16. Khambay B., Carlson G. R., Denholm I., Jacobson R. M. Rapid report: Negative cross-resistance between dihydropyrazole insecticides and pyrethroids in houseflies, *Musca domestica*. *Pest Management Science*. 2001; 57 (9): 761-763. <https://doi.org/10.1002/ps.381>
  17. Khan H. A., Akram W., Shad S. A. Genetics, cross-resistance and mechanism of resistance to spinosad in a field strain of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Acta Tropica*. 2014; 130: 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.11.006>
  18. Khan H. A. A., Akram W., Iqbal J., Naeem-Ullah U. Thiamethoxam Resistance in the House Fly, *Musca domestica* L.: Current Status, Resistance Selection, Cross-Resistance Potential and Possible Biochemical Mechanisms. *PLoS ONE*. 2015; 10 (5): e0125850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125850>
  19. Khan H. A. A. Resistance risk assessment, cross-resistance potential and realized heritability of resistance to methomyl in *Musca domestica* Linnaeus. *Ecotoxicology*. 2024; 33: 226-234. <https://doi.org/10.1007/s10646-024-02742-2>
  20. Kinareikina A., Silivanova E. Impact of Insecticides at Sublethal Concentrations on the Enzyme Activities in Adult *Musca domestica* L. *Toxics*. 2023; 11: 47. <https://doi.org/10.3390/toxics11010047>
  21. Li Q., Huang J., Yuan J. Status and preliminary mechanism of resistance to insecticides in a field strain of housefly (*Musca domestica*, L). *Revista Brasileira de Entomologia*. 2018; 62 (4): 311-314. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.09.003>
  22. Liu N., Yue X. Insecticide resistance and cross-resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*. 2000; 93 (4): 1269-1275. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.4.1269>
  23. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951; 193 (1): 265-275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
  24. Mekapogu A. R. Finney's probit analysis spreadsheet calculator. 2021; URL: <https://probitanalysis.wordpress.com/>
  25. Pittendrigh B. R., Huesing J. E., Margam V. M., Sun L. Negative Cross Resistance: past present and potential for the future. In book: *Insect Resistance Management: Biology, Economics, and Prediction*. Publisher: Academic Press Editors: David W. Onstad. 2007; (pp.107-134) <https://doi.org/10.1016/b978-012373858-5.50008-3>
  26. Pittendrigh B. R., Huesing J., Walters K. R., Olds B. P., Steele L. D., Sun L., Gaffney P., Gassmann A. J. Chapter 11 – Negative Cross-Resistance: History, Present Status, and Emerging Opportunities. In *Insect Resistance Management (Second Edition)*, Editor(s): David W. Onstad, Academic Press, 2014; 373-401. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396955-2.00011-4>
  27. Pittendrigh B. R., Gaffney P., Murdock L. L. Deterministic modeling of negative cross-resistance strategies for use in transgenic host-

- plant resistance. *Journal of Theoretical Biology*. 2000; 204 (1): 135-150. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.2006>
28. Qu R., Zhu J., Li M., Jashenko R., Qiu X. Multiple Genetic Mutations Related to Insecticide Resistance are Detected in Field Kazakhstani House Flies (Muscidae: Diptera). *Journal of Medical Entomology*. 2021; 58: 2338-2348. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab110>
  29. Rodrigues-Silva N., Canuto A. F., Oliveira D. F., Teixeira A. F., Santos-Amaya O. F., Picanço M. C., Pereira E. J. G. Negative cross-resistance between structurally different *Bacillus thuringiensis* toxins may favor resistance management of soybean looper in transgenic Bt cultivars. *Scientific Reports*. 2019; 9: 199. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35965-5>
  30. Scott J. G. Evolution of resistance to pyrethroid insecticides in *Musca domestica*. *Pest Management Science*. 2017; 73: 716-722. <https://doi.org/10.1002/ps.4328>
  31. Sparks T. C., Crossthwaite A. J., Nauen R., Banba S., Cordova D., Earley F. Ebbinghaus-Kintscher U., Fujioka S., Hirao A., Karmon D., Kennedy R., Nakao T., Popham H. J. R., Salgado V., Watson G. B., Wedel B. J., Wessels F. J. Insecticides, biologics and nematocides: Updates to IRAC's mode of action classification – a tool for resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2020; 167: 104587. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104587>
  32. Tchouakui M., Assatse T., Tazokong H. R., Oruni A., Menze B. D., Nguiffo-Nguete D., Mugenzi L. M. J., Kayondo J., Watsenga F., Mzilahowa T., Osae M., Wondji C. S. Detection of a reduced susceptibility to chlorfenapyr in the malaria vector *Anopheles gambiae* contrasts with full susceptibility in *Anopheles funestus* across Africa. *Scientific Reports*. 2023; 13: 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29605-w>
  33. Wang Q., Rui C., Wang L., Nahiyoon S. A., Huang W., Zhu J., Ji X., Yang Q., Yuan H., Cui L. Field-evolved resistance to 11 insecticides and the mechanisms involved in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*. 2021; 77: 5086-5095. <https://doi.org/10.1002/ps.6548>
  34. Zhu F., Liu N. Differential expression of CYP6A5 and CYP6A5v2 in pyrethroid-resistant house flies, *Musca domestica*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2008; 67: 107-119. <https://doi.org/10.1002/arch.20225>
  35. Zhu F., Feng J. N., Zhang L., Liu N. Characterization of two novel cytochrome P450 genes in insecticide-resistant house-flies. *Insect Molecular Biology*. 2008; 17: 27-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2008.00777.x>

The article was submitted 10.07.24; approved after reviewing 03.11.24; accepted for publication 07.11.24

#### About the authors:

**Elena A. Silivanova**, candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Insects; SPIN: 2036-6650, Researcher ID: C-8266-2015, Scopus ID: 57203024713.

**Anna G. Kinareikina**, postgraduate student, junior researcher at the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Insects; SPIN: 4783-9147, Researcher ID: AFK-9864-2022, Scopus ID: 58076407400.

**Alina R. Nurislamova**, laboratory research assistant in the laboratory of molecular biology and insect biotechnology.

**Anastasia D. Melnichuk**, junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Insects; SPIN: 7690-7070, Researcher ID: HJG-5175-2022.

**Kseniya Yu. Maslakova**, postgraduate student, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Insects; SPIN: 8761-2244.

**Liana Ya. Yangirova**, postgraduate student, junior researcher at the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Insects; SPIN: 1163940, Researcher ID: HHN-5767-2022.

**Kseniya S. Krestonoshina**, head of the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology of Insects; SPIN: 2386-5329, Researcher ID: AFM-4923-2022.

#### Contribution of the authors:

Silivanova E. A. – conceptualization and design of the study, collection of insects, determination of enzyme activity, critical analysis of toxicological and biochemical study results, data interpretation, preparation and design of the manuscript.

Kinareikina A. G. – performing toxicological tests, analyzing the obtained data, preparing the manuscript.

Nurislamova A. R. – insect culture, toxicological testing.

Melnichuk A. D. – DNA extraction, PCR, analysis and interpretation of sequencing results.

Maslakova K. Yu. – biochemical studies, manuscript preparation.

Yangirova L. Ya. – statistical processing of results.

Krestonoshina K. S. – DNA extraction, determination of genomic DNA concentration, PCR, analysis of the obtained results.

*All authors have read and approved the final manuscript.*