

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-5-916

УДК 57.577.15:595.773:632.95.025.8



Научная статья

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ АКТИВНОСТИ ГЛУТАМИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ У *MUSCA DOMESTICA* L.

К.Ю. Маслакова, Л.Я. Янгирова, Е.А. Силиванова

Обоснование. Являясь носителем множества патогенов, комнатная муха *Musca domestica* L. может представлять серьезные угрозы для здоровья человека и животных. *M. domestica* хорошо подходит в качестве модельного организма для изучения физиологии и биохимии насекомых, механизмов формирования инсектицидной резистентности, а также разработки и испытаний действия инсектицидов. Во всем мире обеспокоены проблемой устойчивости насекомых к инсектицидам, в связи с этим изучение ферментов насекомых очень важно для более полного понимания механизмов, лежащих в основе устойчивости к инсектицидным препаратам.

Цель. Изучить онтогенетический профиль активности глутамион-S-трансферазы у *Musca domestica* L.

Материалы и методы. Активность глутамион-S-трансферазы определяли на разных стадиях онтогенетического развития *M. domestica* у лабораторных (ТУ и UF) линий и природных (Nov и Nik) популяций с использованием субстрата 1-хлор-2,4-динитробензола при 340 нм в режиме кинетика. Удельную активность рассчитывали с учетом неферментативного преобразования субстрата, фактора разведения гомогената, содержания белка в пробе и выражали как изменение оптической плотности за 1 минуту на мг белка.

Результаты. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях в активности глутамион-S-трансферазы в процессе жизненного цикла *M. domestica*, как у лабораторных линий, так и у природных популяций. Различия наблюдаются между разными стадиями онтогенетического развития. Активность фермента у ТУ линии выше, чем у UF линии практически на всех стадиях жизненного цикла насекомого. Среди природных активность выше у Nov популяции.

Заключение. Выявленные отличия между особями природных популяций, скорее всего, обусловлены разной инсектицидной нагрузкой в местах сбора

насекомых. Отличия между особями лабораторных линий и природных популяций могут быть опосредованы разным набором генетической информации, передающейся из поколения в поколение. Связано это может быть с экспрессией отдельных изоформ, поскольку на экспрессию ферментов могут влиять различные факторы, в том числе и факторы окружающей среды, так что на генетическом уровне могут быть выбраны качественно различные формы и дифференциально экспрессированы. Полученные результаты могут быть использованы при разработке программ по контролю численности насекомых.

Ключевые слова: комнатная муха; онтогенез; фермент; антиоксидантная система; окислительный стресс; инсектицидная резистентность

Для цитирования. Маслакова К.Ю., Янгирова Л.Я., Силиванова Е.А. Онтогенетический профиль активности глутатион-S-трансферазы у *Musca domestica* L. // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2024. Т. 16, №5. С. 60-79. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-5-916

Original article

ONTOGENETIC PROFILE OF THE GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ACTIVITY IN *MUSCA DOMESTICA* L.

K. Yu. Maslakova, L. Ya. Yangirova, E. A. Silivanova

Background. *Musca domestica* L. can transmit pathogens, and therefore poses serious threats to human and animal health. *M. domestica* is known as a model organism for studying the physiology and biochemistry of insects, the mechanisms of insecticidal resistance, as well as the development and testing of insecticides. The issue of insecticide resistance in insects is a concern all over the world; therefore, the study of insect enzymes is very important for a more complete understanding of the mechanisms underlying resistance to insecticides.

Purpose. To study the ontogenetic profile of glutathione-S-transferase activity in *Musca domestica* L.

Materials and methods. The glutathione-S-transferase activity was determined in *M. domestica* of laboratory (TY and UF) and field (Nov and Nik) strains at different ontogenetic stages. 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene was used as the substrate and the optical density was recorded at 340 nm in kinetic mode. Specific activity was calculated taking into account the non-enzymatic transformation of the substrate,

the dilution factor of the homogenate, and the protein content in the sample and was expressed as the change in optical density in 1 minute per mg of protein.

Results. The results obtained indicate changes in glutathione-S-transferase activity during the life cycle of *M. domestica*, both in laboratory and in field strains. Differences are observed between different stages of ontogenetic development. The enzyme activity in insects of the Lab TY strain was higher than that of the UF strain at almost all stages of the insect life cycle. For field strains, the GST activity was higher in specimens of the Nov strain compared to that of the Nik strain.

Conclusion. The differences of the GST activities in flies between two field strains may be due to differences in insecticidal load in the insect catching locations. The identified differences between flies of the laboratory and field strains may be associated with different genetic information. This may be related to the expression of certain enzyme isoforms, since the expression of enzymes can be influenced by various factors, including environmental factors, so that qualitatively different forms can be selected at the genetic level and differentially expressed. The results can be applied to the design of insect population management programs.

Keywords: housefly; ontogenesis; enzyme; antioxidant system; oxidative stress; insecticidal resistance

For citation. Maslakova K.Yu., Yangirova L.Ya., Silivanova E.A. Ontogenetic Profile of the Glutathione-S-Transferase Activity in *Musca domestica* L. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2024, vol. 16, no. 5, pp. 60-79. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-5-916

Введение

Комнатная муха *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) – синантропное насекомое, являющееся переносчиком более 100 различных заболеваний [9]. Являясь носителем множества патогенов, *M. domestica* может представлять большую опасность как для людей, так и для животных [9; 18]. Устойчивость к инсектицидам среди популяций комнатных мух является серьезной проблемой, с которой сталкиваются во всем мире [7]. В связи с этим, изучение ферментных систем насекомых очень важно для понимания механизмов, которые лежат в основе устойчивости к инсектицидам.

Насекомые обладают набором различных поведенческих, биохимических, физиологических, генетических и метаболических механизмов для борьбы с токсичными химическими веществами, что может приводить к устойчивости [22]. Глутатион-S-трансферазы (GSTs) (EC 2.5.1.18) – это разнообразное семейство ферментов, повсеместно встречающихся в аэробных организмах [6]. GSTs катализируют реакцию конъюгации восста-

новленного глутатиона с широким спектром электрофильных соединений [19, 10]. Большой интерес к GSTs насекомых обусловлен, разумеется, их влиянием на метаболизм инсектицидов и развитие к ним устойчивости, поскольку это семейство ферментов играет решающую роль в детоксикации инсектицидных препаратов и ксенобиотиков [17]. На сегодняшний день активность GST связана с устойчивостью ко всем основным классам инсектицидов [20]. Помимо этого, фермент также может принимать участие во внутриклеточном транспорте, биосинтезе гормонов и защите от окислительного стресса [6]. В суперсемействе GST выделяют три субсемейства изоформ: цитозольные, митохондриальные и микросомальные [2]. Аннотация геномов *Anopheles gambiae* и *Drosophila melanogaster* выявила полный спектр семейства ферментов GST у насекомых [6]. У насекомых встречаются цитозольные и микросомальные GST [6]. Цитозольные GSTs хорошо охарактеризованы и разделены на шесть классов: Theta, Zeta, Omega, Sigma, Delta и Epsilon [21]. Delta и Epsilon специфичны для насекомых [8]. Два этих класса участвуют в нейтрализации токсинов окружающей среды и играют важную роль в адаптации насекомых к окружающей среде [6; 21]. Уровни отдельных ферментов могут сильно варьироваться на протяжении всей жизни насекомого. Известно об изменении активности GST у беспозвоночных в зависимости от возраста [19].

Цель работы. Изучить онтогенетический профиль активности глутатион-S-трансферазы у *M. domestica* L.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на лабораторных культурах и природных популяциях *M. domestica*. Лабораторные культуры Тюменской (Lab TY) и Уфимской (Lab UF) линий получены из Новосибирского аграрного университета в 2009 году и из лаборатории биохимии и генетики УФИЦ РАН в 2023 году, соответственно. Особи природных популяций Nov и Nik были отловлены в мае-сентябре в 2023 года в животноводческих помещениях ООО «Новиково» (с. Новикова, Исетский район) и СПК «Таволжан» (с. Никулино, Сладковский район) Тюменской области соответственно, в работе были использованы особи первого поколения, полученного в условиях инсектария. Активность GST определяли на разных стадиях онтогенетического развития насекомого: яйца (Eg), личинки I, II и III возраста (суточные личинки (L1), личинки 3-4 суток (L3-4) и 5-6 суток (L5-6) соответственно), куколки (Pup), суточные крыленные особи (Adult1) и имаго в возрасте

5-6 дней с разделением по полу (AdultF и AdultM) (рисунок 1). Культивирование и содержание насекомых осуществляли согласно правилам, изложенным Беньковской Г. В. [1].

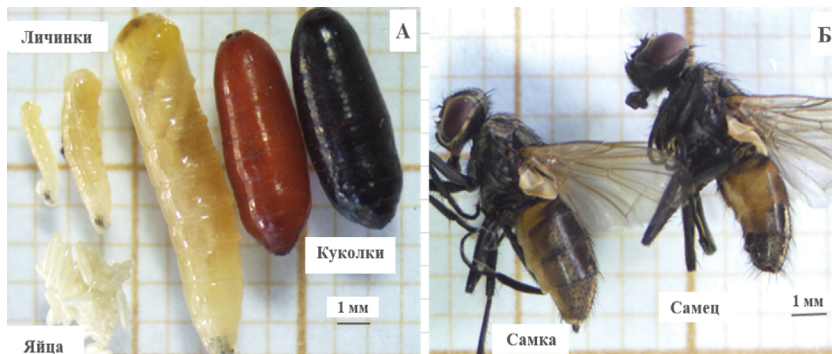


Рис. 1. *M. domestica* на преимагинальных (А) и имагинальной (Б) стадиях развития под микроскопом стерео МС-2-Zoom, видеоокуляр TourCam UCMOS05100KPA, увеличение WF 20×.

Гомогенизацию тканей осуществляли на лабораторном гомогенизаторе Биорепр-24R (Allsheng, Китай) при +4°C. В качестве среды выделения использовали 0,1М фосфатный буфер pH 7,6, содержащий 1мМ EDTA, 1мМ PTU, 1мМ PMSF, 1мМ DTE и Triton-X100. Полученные гомогенаты центрифугировали при 12000 g в течение 2 мин, а затем отбирали супернатант для дальнейших исследований. Активность GST определяли в 96-луночных микропланшетах (MiniMed, Россия) на микропланшетном фотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific Inc., Финляндия) при 340 нм в режиме кинетика. В качестве субстрата использовали CDNB (1-хлор-2,4-динитробензол). Рассчитывали удельную активность с учетом неферментативного преобразования субстрата, фактора разведения гомогената, содержания белка в пробе и выражали как изменение оптической плотности за 1 минуту на мг белка ($\Delta OD/\text{мин}/\text{мг}$ белка). Расчет осуществляли при помощи программы для обработки результатов определения активности глутатион-S-трансферазы (FAGT) [3]. Количественное содержание белка определяли методом Lowry O. H. [16]. Статистическая обработка включала вычисление среднего значения и стандартного отклонения, и использование двустороннего дисперсионного анализа ANOVA с применением критерия Данна для множественных сравнений ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования

Активность GST у *M. domestica* UF линии варьировала от $1,62 \pm 0,28$ до $3,68 \pm 0,88$, у TY – от $2,53 \pm 0,29$ до $4,82 \pm 0,44$ (ΔOD/мин/мг белка ± ст. откл). Наименьшая активность была зарегистрирована на стадии L1 у обеих лабораторных линий. Пик активности фермента у UF линии наблюдался на стадии L5-6. У TY линии наиболее высокие значения зафиксированы на стадии Pup, а затем наблюдалось резкое снижение активности у суточных особей и нарастание активности у 5-6 суточных имаго (рисунок 2).

Статистически значимое увеличение активности фермента по сравнению со стадией Eg было обнаружено на следующих стадиях развития *M. domestica* UF линии: L5-6 – в 1,82 раз; Pup – в 1,79 раз; Adult1 – в 1,44 раз; AdultF – в 1,63 раз; AdultM – в 1,61 раз. Обнаружено возрастание активности фермента по сравнению с L1 на следующих стадиях: L5-6 – в 2,28 раз; Pup – в 2,25 раз; Adult1 – в 1,81 раз; AdultF – в 2,04 раз; AdultM – в 2,01 раз. Также, возрастание активности наблюдалось и в сравнении с L3-4 на стадиях: L5-6 – в 1,67 раз; Pup – в 1,65 раз; Adult1 – в 1,33 раз; AdultF – в 1,50 раз; AdultM – в 1,48 раз. У Adult1 по сравнению со стадией Pup активность GST снизилась в 1,25 раз.

У TY линии *M. domestica* обнаружено статистически значимое увеличение активности фермента по сравнению со стадией Eg на следующих стадиях: L3-4 – в 1,52 раз; Pup – в 1,75 раз; AdultF – в 1,30 раз; AdultM – в 1,50 раз. Обнаружено возрастание активности по сравнению с L1 на следующих стадиях: L3-4 – в 1,66 раз; Pup – в 1,90 раз; AdultF – в 1,41 раз; AdultM – в 1,64 раз. Активность GST на стадии L5-6 достоверно ниже по сравнению с: L3-4 – в 1,47 раз; Pup – в 1,69 раз; AdultF – в 1,25 раз; AdultM – в 1,45 раз. На стадии Adult1 наблюдается снижение активности GST по сравнению со стадией L3-4 в 1,39 раз. Снижение активности наблюдается на стадиях Adult1 и AdultF в сравнении со стадией Pup в 1,60 раз и в 1,35 раз соответственно. Зафиксировано возрастание активности у AdultM в 1,38 раз по сравнению с Adult1.

Активность GST у *M. domestica* Nov популяции варьировала от $1,52 \pm 0,08$ до $4,61 \pm 0,82$, у Nik – от $1,92 \pm 0,20$ до $3,91 \pm 0,39$ (ΔOD/мин/мг белка ± ст. откл). У обеих природных популяций пик активности наблюдался у AdultF, а наименьшая активность была зарегистрирована у L1. У Nov популяции активность GST нарастала со стадии L1 до L5-6, затем снижалась до Adult1 и резко возрастала у AdultF. У Nik популяции наблюдалась аналогичная зависимость (рисунок 2).

Статистически значимое увеличение активности фермента по сравнению со стадией Eg было обнаружено на следующих стадиях развития *M. domestica* Nik популяции: L3-4 – в 1,41 раз; L5-6 – в 1,51 раз; Pup – в 1,46

раз; Adult1 – в 1,41 раз; AdultF в – 1,63 раз; AdultM в – 1,55 раз. Активность GST была достоверно выше по сравнению с L1 на стадиях: L3-4 – в 1,76 раз; L5-6 – в 1,88 раз; Pup – в 1,82 раз; Adult1 – в 1,76 раз; AdultF – в 2,04 раз; AdultM – в 1,94 раз. Отмечено достоверное возрастание активности на стадии AdultF в сравнении со стадией L3-4 в 1,16 раз. Увеличение активности фермента в сравнении с Adult1 зарегистрировано у AdultF – в 1,16 раз.

У Nov популяции *M. domestica* достоверное увеличение GST зарегистрировано на следующих стадиях в сравнении со стадией Eg: L3-4 – в 1,37 раз; L5-6 – в 1,71 раз; Pup – в 1,42 раз; Adult1 – в 1,37 раз; AdultF – в 1,82 раз; AdultM – в 1,80 раз. Активность фермента достоверно выше по сравнению с L1 на стадиях: L3-4 – в 2,28 раз; L5-6 – в 2,86 раз; Pup – в 2,37 раз; Adult1 – в 2,30 раз; AdultF – в 3,04 раз; AdultM – в 3,01 раз. Наблюдается достоверное увеличение активности GST по сравнению с L3-4: L5-6 – в 1,25 раз; AdultF – в 1,33 раз; AdultM – в 1,32 раз. Обнаружено снижение активности по сравнению со стадией L5-6: Pup – в 1,20 раз; Adult1 – в 1,24 раз. Наблюдается увеличение активности GST у AdultF в 1,28 раз, а у AdultM в 1,27 раз в сравнении со стадией Pup. Увеличивается GST и на стадии AdultF (в 1,32 раз) и AdultM (в 1,31 раз) по сравнению с Adult1.

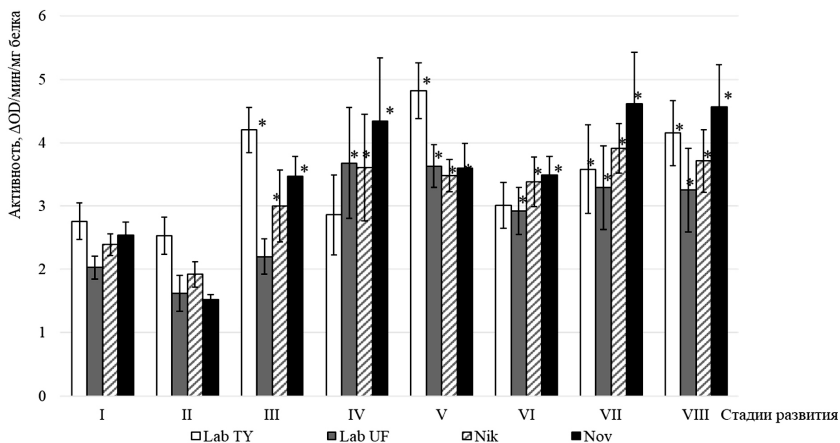


Рис. 2. Удельная активность глутатион-S-трансферазы у *M. domestica* лабораторных линий и природных популяций на разных стадиях развития ($\Delta\text{OD}/\text{мин}/\text{мг}$ белка \pm S.D.). Стадии развития: I - яйцо, II - личинка 1 сут, III - личинка 3-4 сут, IV - личинка 5-6 сут, V - куколка, VI - имаго 1 сут, VII - имаго самки 5-6 сут, VIII - имаго самцы 5-6 сут. Звездочкой обозначены статистически значимые отличия по сравнению со стадией яйца аналогичной линии ($p < 0,05$, критерий Данна).

На рисунке 3 активность GST показана в виде цветовой схемы, где отчетливо можно увидеть разницу в активности фермента между линиями/популяциями на разных стадиях развития *M. domestica*.

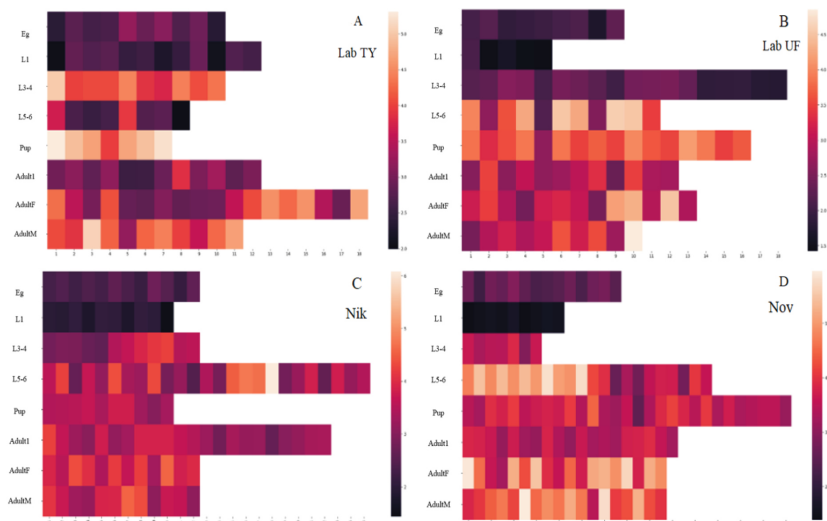


Рис. 3. Активность GST у особей *M. domestica* на разных стадиях развития:

А – лабораторная TY линия ; В – лабораторная UF линия; С – природная популяция Nik; D – природная популяция Nov. Ось ординат – стадии развития, ось абсцисс – номера проб; интенсивность цвета отражает значение активности (наиболее темный цвет соответствует наименьшему значению).

Нами также была проведена сравнительная оценка всех стадий развития между лабораторными линиями и природными популяциями по критерию Данна ($p < 0,05$). Обнаружены статистически достоверные различия на стадии Eg между: Nik и TY; Nik и UF; Nov и UF; TY и UF. На стадии L1 между: Nik и Nov; Nik и TY; Nov и TY; TY и UF. На стадии L3-4 между: Nik и TY; Nik и UF; Nov и UF; TY и UF. На стадии L5-6 между: Nik и Nov; Nik и TY; Nov и TY. На стадии Pup между: Nik и TY; Nov и TY; TY и UF. На стадии Adult1 между: Nik и TY; Nik и UF; Nov и TY; Nov и UF. На стадии AdultF между: Nik и UF; Nov и TY; Nov и UF. На стадии AdultM между: Nik и Nov; Nov и UF; TY и UF.

Обсуждение

Изменение активности ферментов детоксикации в онтогенезе насекомых определяет их способность адаптироваться к инсектицидной нагрузке

на разных стадиях своего развития [23; 24]. Значительную роль в устойчивости к инсектицидам могут играть также ферменты антиоксидантной системы. Результаты исследования Kolawole A. O. с соавторами [13] подтверждают гипотезу о том, что антиоксидантные системы модулируются в ответ на цитотоксичность, опосредованную окислительным стрессом от инсектицидов. Результаты нашего исследования показали, что активность GST изменяется в процессе развития *M. domestica* как в лабораторной, так и природной среде обитания.

В более ранних работах [4] для *M. domestica* описаны изменения в активности некоторых антиоксидантных ферментов на протяжении онтогенетического развития. Было показано, что активность S-трансфераз примерно в 3 раза выше во время второго личиночного возраста, чем в яйцах. В дальнейшем активность фермента уменьшалась и оставалась относительно низкой. Повторное снижение активности наблюдалось по завершении метаморфоза. Результаты нашего исследования показывают, что активность GST в L3-4 TY линии возросла в 1,52 раза по сравнению со стадией яйца. У особой UF линии данной стадии развития достоверных отличий не обнаружено. Касаемо природных популяций, у L3-4 Nov активность фермента возросла в 1,37 раз по сравнению со стадией яйца, а у L3-4 Nik – в 1,41 раз. Papadopoulos A. I. с соавторами [19] исследовали характер активности GST в процессе развития *Apis mellifera macedonica* L. Было обнаружено, что активность фермента присутствует на всех стадиях развития. Самая высокая активность наблюдалась во взрослой стадии, а самая низкая – в яйце. Кинетические характеристики фермента также изменяются по мере развития насекомого. Авторами было выдвинуто предположение, что увеличение активности GST у взрослых *A. mellifera* может быть вызвано экспрессией отдельных изоформ фермента, что, возможно, связано с изменением кормовой базы взрослой особи, периодом размножения и/или другими факторами. Это предположение также может быть уместно в отношении объекта нашего исследования – *M. domestica*.

Уровень активности GST у Уфимской линии *M. domestica* возрастает до стадии L5-6, а затем наблюдается постепенное снижение ферментативной активности. Такое возрастание активности может быть связано с переходом из личиночной стадии в стадию куколки. Личинки запасают достаточное количество питательных веществ, которые требуются для перестройки тканей и органов. Kaleka A. S. с соавторами [12] сообщает, что на стадиях развития личинки потребляют больше пищи, чтобы ускорить переход во взрослую форму. Куколка же не питается, поэтому энергию для жизнео-

беспечения она должна получать из той пищи, которую она потребляла, будучи личинкой, поэтому у личинок уровень антиоксидантов имеет решающее значение для последующих стадий развития.

В исследовании Dmochowska-Ślęzak K. с соавторами [5] изучалась способность *Osmia bicornis* L. инактивировать свободные радикалы во время развития насекомых. Исследование проводили на самцах и самках пчел от личиночной стадии до имаго. Определяли активность супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, глутатион-S-трансферазы, а также содержание глутатиона и общий антиоксидантный статус. Было показано, что наибольшие значения изучаемых показателей обнаруживались на стадиях питания – у личинок и у активных имаго обоих полов. Высокие уровни активности ферментов у имаго *O. bicornis* авторы объясняют усилением митохондриальной активности из-за высоких энергетических потребностей на этой стадии, особенно во время полета. Результаты нашего исследования указывают на достаточно высокую активность GST у L5-6 и имаго в сравнении со стадиями Eg, L1 и L3-4 у обеих природных популяций. Наблюдается снижение активности на стадии куколки, а затем нарастание у имаго.

Исследование Wongtrakul J. [25] демонстрирует, что изоформы GST одного и того же класса могут иметь совершенно разную субстратную специфичность. Kostaropoulos I. с соавторами [14] изучена онтогенетическая картина суммарной активности GST у *Tenebrio molitor* по отношению к трем различным субстратам. Исследование показало, что различные изоформы фермента проявляют разные, хотя и частично перекрывающиеся, субстратные специфичности. Наибольшая активность фермента обнаруживалась на стадии куколки, что можно объяснить следующим. Куколки сами по себе неподвижны, поэтому они являются наиболее уязвимыми к неблагоприятным условиям окружающей среды. Данная стадия характеризуется повышенным биосинтезом, следовательно, высокая ферментативная активность может означать высокую способность к детоксикации, и как следствие, защиту важных путей биосинтеза от ингибирования токсичными эндо- и экзогенными веществами. В нашей работе пик активности GST у обеих природных популяций был зарегистрирован не на стадии куколки, а у взрослых особей – самок 5-6 сутки. Наименьшая активность была зафиксирована у суточных личинок также у обеих природных популяций.

В исследовании Sahoo A. с соавторами [21] проведена оценка состояния антиоксидантной защиты во время личиночного развития *Antheraea mylitta*. Результаты работы указывают на прогрессивное снижение окислительной угрозы во время личиночного онтогенеза. Высокая активность супероксид-

дисмутазы и каталазы, наблюдаемая у личинок 1-го возраста, указывает на адаптивный антиоксидантный ответ. Предполагается, что ранние личинки (1-3 возрастные стадии) подвергаются значительной прооксидантной атаке и получают защиту от ферментативных антиоксидантов. Напротив, более взрослые личинки получают комбинированную защиту от ферментативных и неферментативных антиоксидантов. Авторы также предполагают, что окислительный стресс во время развития личинок *A. mylitta* зависит от стадии и, соответственно, антиоксидантная защита играет стратегическую роль в обеспечении защиты развивающихся личинок.

Результаты нашего исследования показывают, что активность GST у TУ линии выше, чем у UF линии практически на всех стадиях жизненного цикла насекомого. Среди природных популяций активность выше у Nov. Наблюдаемые различия, по нашему мнению, могут быть опосредованы разным набором генетической информации лабораторных линий и природных популяций, передающейся из поколения в поколение. Связано это может быть с экспрессией отдельных изоформ, поскольку на экспрессию ферментов могут влиять различные факторы, в том числе инсектициды и факторы окружающей среды, так что на генетическом уровне могут быть выбраны качественно различные формы и дифференциально экспрессированы. У насекомых подтверждена индуцированная экспрессия генов GST. Так, например, показано, что у *Spodopteralitura* уровни транскрипции нескольких генов GST значительно повышались после воздействия хлорпирифоса [26].

Универсальным электрофильным субстратом для всех классов GST является CDNB, однако, каждый класс может различаться по своей аффинности или специфической активности по отношению к данному конкретному субстрату [11]. В работе Kostaropoulos I. [15] у *Tenebrio molitor* профили онтогенетической активности субстратов DCNB и CDNB были сходны, активность GST оставалась неизменной на личиночной стадии и достигала максимума у только что появившихся куколок. После этого конъюгирующая активность фермента с DCNB начала неуклонно снижаться, а конъюгирующая активность с CDNB оставалась постоянной на протяжении всей стадии куколки, за которой последовало снижение во взрослой фазе. Два насекомых (*Lucilia cuprina* и *Aedes aegypti*) демонстрируют сходную онтогенетическую модель с найденной для *Tenebrio molitor*, то есть наибольшая активность GST проявляется на стадии куколки. Объясняют это двояко: во-первых, тем, что куколки неподвижны и, следовательно, более уязвимы к неблагоприятным условиям внешней среды, в том числе и к присутствию токсических веществ; во-вторых, по-

вышенный биосинтез и строительство взрослых тканей на стадии куколки [25] и, следовательно, высокая специфическая активность могут означать высокую способность к детоксикации и, как следствие, защиту важных и решающих путей биосинтеза от ингибирования экзо- или эндогенными токсическими веществами.

Заключение

Результаты исследования указывают на изменение активности глутатион-S-трансферазы на разных стадиях жизненного цикла *M. domestica* как лабораторной линии, так и природной популяции, что может влиять на способность насекомых адаптироваться к инсектицидной нагрузке на разных стадиях развития [25]. Согласно полученным результатам, у особей природной популяции Nov (у личинок 5-6 сут и имаго) активность GST была выше, чем у представителей лабораторных линий и природной популяции Nik, а лабораторная линия Lab UF отличалась наименьшей активностью фермента, что было статистически значимо на стадиях яйца, личинки 3-4 сут и имаго. Выявленные отличия между особями природных популяций, скорее всего, обусловлены разной инсектицидной нагрузкой в местах сбора насекомых и изменением экспрессии отдельных изоформ исследуемого фермента. Дальнейшие наши исследования будут нацелены: на оценку полиморфизма генов, кодирующих глутатион-S-трансферазу, и изучение изоформ исследуемого фермента на разных стадиях жизненного цикла комнатной мухи; а также на изучение более широкого спектра ферментов детоксикации и антиоксидантной системы в онтогенезе. Согласно полученным ранее результатам и результатам данной работы, комнатные мухи наиболее восприимчивы к действию токсикантов на стадии яйца и личинки I возраста.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании. Работа выполнена Всероссийским научно-исследовательским институтом ветеринарной энтомологии и арахнологии ТюмНЦ СО РАН в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FWRZ-2022-0022).

Список литературы

1. Беньковская Г. В. Принципы содержания лабораторных линий насекомых // Биомика. 2017. Т. 9. № 1. С. 24-32.

2. Калинина Е. В., Чернов Н. Н., Новичкова М. Д. Роль глутатиона, глутатион-трансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // *Успехи биологической химии*. 2014. Т. 54. С. 299-384.
3. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2023617030. FAGT / Л. Я. Янгирова. – Заявка №2023615987. Дата поступления 28 марта 2023 г. Зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 4 апреля 2023 г.
4. Allen R. G., Oberley L. W., Elwell J. H. Developmental patterns in the antioxidant defenses of the housefly, *Musca domestica* // *Journal of Cellular Physiology*, 1991, vol. 146, no. 2, pp. 270-276. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041460212>
5. Dmochowska-Słężak K., Giejdasz K., Fliszkiewicz M., Żółtowska K. Variations in antioxidant defense during the development of the solitary bee // *Osmia bicornis*. *Apidologie*, 2015, vol. 46, no. 4, pp. 432-444. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0333-y>
6. Enayati A. A., Ranson H., Hemingway J. Insect glutathione transferases and insecticide resistance // *Insect Molecular Biology*, 2005, vol. 14, no. 1, pp. 3-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2004.00529.x>
7. 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, vol. 158, pp. 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.006>
8. Friedman R. Genomic organization of the glutathione S-transferase family in insects // *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2011, vol. 61, no. 3, pp. 924-932. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.08.027>
9. House Fly (Diptera: Muscidae): Biology, Pest Status, Current Management Prospects, and Research Needs / Geden C. J., Nayduch D., Scott J. G., Burgess E. R., IV, Gerry A. C., Kaufman P. E., Thomson J., Pickens V., Machtinger E. T. // *Journal of Integrated Pest Management*, 2021, vol. 12, no. 1, pp. 1-38. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa021>
10. Detection and functional characterization of sigma class GST in *Phlebotomus argentipes* and its role in stress tolerance and DDT resistance / Hassan F., Singh K. P., Ali V., Behera S., Shivam P., Das P., Dinesh D. S. // *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, pp. 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56209-0>
11. Molecular Evolution of the Glutathione S-Transferase Family in the *Bemisia tabaci* Species Complex / Harari O. A., Santos-Garcia D., Musseri M., Moshitzky P., Patel M., Visendi P., Seal S., Sertchook R., Malka O., Morin S. // *Genome Biology and Evolution*, 2020, vol. 12, no. 2, pp. 3857-3872. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa002>
12. Larval Development and Molting / Kaleka A. S., Kaur N., Kour Bali G. *Edible Insects*, 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85530>

13. Kolawole A. O., Olajuyigbe F. M., Ajele J. O., Adedire C. O. Activity of the Antioxidant Defense System in a Typical Bioinsecticide-and Synthetic Insecticide-treated Cowpea Storage Beetle *Callosobrochus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae) // *International Journal of Insect Science*, 2014, vol. 6, pp. 99-108. <https://doi.org/10.4137/IJIS.S19434>
14. Kostaropoulos I., Mantzari A. E., Papadopoulos A. I. Alterations of some glutathione S-transferase characteristics during the development of *Tenebrio molitor* (Insecta: Coleoptera) // *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1996, vol. 26, no. 8-9, pp. 963-969. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(96\)00063-X](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(96)00063-X)
15. Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects / Kostaropoulos I., Papadopoulos A. I., Metaxakis A., Boukouvala E., Papadopoulou-Mourkidou E. // *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, vol. 31, no. 4-5, pp. 313-319. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(00\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(00)00123-5)
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent // *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, pp. 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
17. Masoud H. M. M., Helmy M. S., Darwish D. A., Ibrahim M. A. Purification, characterization, and enzyme kinetics of a glutathione S transferase from larvae of the camel tick *Hyalomma dromedarii* // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2023, vol. 21, no. 1, p. 28. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00486-w>
18. House Flies Are Underappreciated Yet Important Reservoirs and Vectors of Microbial Threats to Animal and Human Health / Nayduch D., Neupane S., Pickens V., Purvis T., Olds C. // *Microorganisms*, 2023, vol. 11, no. 3, p. 583. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030583>
19. Glutathione S-transferase in the developmental stages of the insect *Apis mellifera macedonica* / Papadopoulos A. I., Polemitou I., Laifi P., Yiangou A., Tantanaki C. // *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2004, vol. 139, no. 1-3, pp. 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.09.009>
20. Pavlidi N., Vontas J., Van Leeuwen T. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors // *Current Opinion in Insect Science*, 2018, vol. 27, pp. 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.04.007>
21. Shou-min, F. Insect glutathione S-transferase: a review of comparative genomic studies and response to xenobiotics // *Bulletin of Insectology*, 2012, vol. 65, pp. 265-271.
22. Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: Challenges and control strategies / Siddiqui J. A., Fan R., Naz H., Bamisile B. S., Hafeez

- M., Ghan M. I., Wei Y., Xu Y., Chen X. // *Frontiers in physiology*, 2023, vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1112278>
23. Silivanova E. A., Levchenko M. A. The activity of hydrolytic enzymes in different life stages of the house fly *Musca domestica* L. // *Theory and practice of parasitic disease control*, 2019, vol. 20, pp. 589-593. <https://doi.org/10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.589-593>
24. Silivanova E. A., Levchenko M. A., Shumilova P. A., Plashkina V. A. Phosphatase and acetylcholinesterase activities in different stages of the life cycle of the housefly *Musca domestica* L. // *Euroasian Entomological Journal*, 2020, vol. 19, pp. 124-130. <https://doi.org/10.15298/euroasentj.19.3.02>
25. Wongtrakul J., Janphen K., Saisawang C., Ketterman A. J. Interaction of Omega, Sigma, and Theta glutathione transferases with p38b mitogen-activated protein kinase from the fruit fly, *Drosophila melanogaster* // *Journal of Insect Science*, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.60>
26. Expression profiles of glutathione Stransferase superfamily in *Spodoptera litura* tolerated to sublethal doses of chlorpyrifos / Zhang N., Liu J., Chen S.-N., Huang L.-H., Feng Q.-L., Zheng S.-C. // *Insect Science*, 2016, vol. 23, pp. 675-687. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12202>

References

1. Benkovskaya G. V. Printsipy soderzhaniya laboratornykh liniy nasekomykh [Principles of keeping laboratory insect lines]. *Biomika*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 24-32.
2. Kalinina Ye. V., Chernov N. N., Novichkova M. D. Rol' glutationa, glutatio-transferazy i glutaredoksina v regulyatsii redoks-zavisimykh protsessov [The role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes]. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 2014, vol. 54, pp. 299-384.
3. Svidetel'stvo o gosudarstvennoy registratsii programmy dlya EVM №2023617030. FAGT [Certificate of state registration of a computer program No. 2023617030. FAGT] / L. Ya. Yangirova. – Zayavka №2023615987. Data postupleniya 28 marta 2023 g. Zaregistrirvano v Reyestre programm dlya EVM 4 aprelya 2023 g. [Application No. 2023615987. Date of receipt: March 28, 2023. Registered in the Register of Computer Programs on April 4, 2023].
4. Allen R. G., Oberley L. W., Elwell J. H. Developmental patterns in the antioxidant defenses of the housefly, *Musca domestica*. *Journal of Cellular Physiology*, 1991, vol. 146, no. 2, pp. 270-276. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041460212>
5. Dmochowska-Ślęzak K., Giejdasz K., Fliszkiewicz M., Żółtowska K. Variations in antioxidant defense during the development of the solitary bee *Osmia*

- bicornis*. *Apidologie*, 2015, vol. 46, no. 4, pp. 432-444. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0333-y>
6. Enayati A. A., Ranson H., Hemingway J. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology*, 2005, vol. 14, no. 1, pp. 3-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2004.00529.x>
 7. 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, vol. 158, pp. 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.04.006>
 8. Friedman R. Genomic organization of the glutathione S-transferase family in insects. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2011, vol. 61, no. 3, pp. 924-932. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.08.027>
 9. House Fly (Diptera: Muscidae): Biology, Pest Status, Current Management Prospects, and Research Needs / Geden C. J., Nayduch D., Scott J. G., Burgess E. R., IV, Gerry A. C., Kaufman P. E., Thomson J., Pickens V., Machtinger E. T. *Journal of Integrated Pest Management*, 2021, vol. 12, no. 1, pp. 1-38. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa021>
 10. Molecular Evolution of the Glutathione S-Transferase Family in the *Bemisia tabaci* Species Complex / Harari O. A., Santos-Garcia D., Musseri M., Moshitzky P., Patel M., Visendi P., Seal S., Sertchook R., Malka O., Morin S. *Genome Biology and Evolution*, 2020, vol. 12, no. 2, pp. 3857-3872. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa002>
 11. Detection and functional characterization of sigma class GST in *Phlebotomus argentipes* and its role in stress tolerance and DDT resistance / Hassan F., Singh K. P., Ali V., Behera S., Shivam P., Das P., Dinesh D. S. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, pp. 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56209-0>
 12. Larval Development and Molting / Kaleka A. S., Kaur N., Kour Bali G. *Edible Insects*, 2019. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85530>
 13. Kolawole A. O., Olajuyigbe F. M., Ajele J. O., Adedire C. O. Activity of the Antioxidant Defense System in a Typical Bioinsecticide-and Synthetic Insecticide-treated Cowpea Storage Beetle *Callosobrochus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae). *International Journal of Insect Science*, 2014, vol. 6, pp. 99-108. <https://doi.org/10.4137/IJIS.S19434>
 14. Kostaropoulos I., Mantzari A. E., Papadopoulos A. I. Alterations of some glutathione S-transferase characteristics during the development of *Tenebrio molitor* (Insecta: Coleoptera). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1996, vol. 26, no. 8-9, pp. 963-969. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(96\)00063-X](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(96)00063-X)
 15. Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects / Kostaropoulos I., Papadopoulos A. I., Metaxakis A., Boukouvala E., Papadopou-

- lou-Mourkidou E. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, vol. 31, no. 4-5, pp. 313-319. [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(00\)00123-5](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(00)00123-5)
16. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, pp. 265-275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
 17. Masoud H. M. M., Helmy M. S., Darwish D. A., Ibrahim M. A. Purification, characterization, and enzyme kinetics of a glutathione S transferase from larvae of the camel tick *Hyalomma dromedarii*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2023, vol. 21, no. 1, p. 28. <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00486-w>
 18. House Flies Are Underappreciated Yet Important Reservoirs and Vectors of Microbial Threats to Animal and Human Health / Nayduch D., Neupane S., Pickens V., Purvis T., Olds C. *Microorganisms*, 2023, vol. 11, no. 3, p. 583. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030583>
 19. Glutathione S-transferase in the developmental stages of the insect *Apis mellifera macedonica* / Papadopoulos A. I., Polemitou I., Laifi P., Yiangou A., Tannanaki C. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2004, vol. 139, no. 1-3, pp. 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.09.009>
 20. Pavlidi N., Vontas J., Van Leeuwen T. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current Opinion in Insect Science*, 2018, vol. 27, pp. 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.04.007>
 21. Shou-min F. Insect glutathione S-transferase: a review of comparative genomic studies and response to xenobiotics. *Bulletin of Insectology*, 2012, vol. 65, pp. 265-271.
 22. Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: Challenges and control strategies / Siddiqui J. A., Fan R., Naz H., Bamisile B. S., Hafeez M., Ghan M. I., Wei Y., Xu Y., Chen X. *Frontiers in physiology*, 2023, vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1112278>
 23. Silivanova E. A., Levchenko M. A. The activity of hydrolytic enzymes in different life stages of the house fly *Musca domestica* L. *Theory and practice of parasitic disease control*, 2019, vol. 20, pp. 589-593. <https://doi.org/10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.589-593>
 24. Silivanova E. A., Levchenko M. A., Shumilova P. A., Plashkina V. A. Phosphatase and acetylcholinesterase activities in different stages of the life cycle of the housefly *Musca domestica* L. *Euroasian Entomological Journal*, 2020, vol. 19, pp. 124-130. <https://doi.org/10.15298/euroasentj.19.3.02>

25. Wongtrakul J., Janphen K., Saisawang C., Ketterman A. J. Interaction of Omega, Sigma, and Theta glutathione transferases with p38b mitogen-activated protein kinase from the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Science*, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 1-13. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.60>
26. Expression profiles of glutathione Stransferase superfamily in *Spodoptera litura* tolerated to sublethal doses of chlorpyrifos / Zhang N., Liu J., Chen S.-N., Huang L.-H., Feng Q.-L., Zheng S.-C. *Insect Science*, 2016, vol. 23, pp. 675-687. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12202>

ВКЛАД АВТОРОВ

Маслакова К.Ю.: разработка концепции исследования, проведение исследования, анализ результатов, составление черновика рукописи, написание рукописи.

Янгирова Л.Я.: статистический анализ данных.

Силиванова Е.А.: разработка концепции исследования, редактирование черновика рукописи.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Kseniya Yu. Maslakova: development of study conception, conducting research, analysis of results, drafting of the manuscript, writing of the manuscript.

Liana Ya. Yangirova: statistical data analysis.

Elena A. Silivanova: development of study conception, editing of the draft of the manuscript.

ДААННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Маслакова Ксения Юрьевна, аспирант, младший научный сотрудник
Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН)
Институтская, 2, г. Тюмень, 625041, Российская Федерация
k.y.maslakova@gmail.com

Янгирова Лиана Януровна, аспирант, младший научный сотрудник
Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН)

*Институтская, 2, г. Тюмень, 625041, Российская Федерация
Lianochka137@mail.ru*

Силиванова Елена Анатольевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии – филиал Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (ВНИИВЭА – филиал ТюмНЦ СО РАН)

*Институтская, 2, г. Тюмень, 625041, Российская Федерация
easylyva@gmail.com*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Kseniya Yu. Maslakova, Graduate Student, Junior Researcher

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)

2, Institutskaya Str., Tyumen, 625041, Russian Federation

k.y.maslakova@gmail.com

SPIN-code: 8761-2244

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9688-5207>

ResearcherID: AGU-9470-2022

Liana Ya. Yangirova, Graduate Student, Junior Researcher

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)

2, Institutskaya Str., Tyumen, 625041, Russian Federation

Lianochka137@mail.ru

SPIN-code: 4705-4470

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7546-485X>

ResearcherID: HHN-5767-2022

Elena A. Silivanova, Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher

All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Federal State Institution Federal Research Cen-

*tre Tyumen Scientific Centre of Siberian Branch of the Russian Academy
of Sciences (ASRIVEA – Branch of Tyumen Scientific Centre SB RAS)
2, Institutskaya Str., Tyumen, 625041, Russian Federation
easylva@gmail.com
SPIN-code: 2036-6650
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0872-8509>
ResearcherID: C-8266-2015
Scopus Author ID: 57203024713*

Поступила 29.03.2024

После рецензирования 23.04.2024

Принята 30.04.2024

Received 29.03.2024

Revised 23.04.2024

Accepted 30.04.2024