

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ФЕНОЛОКСИДАЗНОГО КАСКАДА В КИШЕЧНИКЕ ТАРАКАНА *RYCNOSCELUS NIGRA* (BRUNNER, 1865) ПРИ АДАПТАЦИИ К СМЕНЕ ПИЩЕВОГО СУБСТРАТА

© 2025 г. А. Н. Гладких^{1, 2, *}, Д. А. Халиуллин³, Л. Р. Гайфуллина¹, Е. С. Салтыкова¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа, Россия

²Башкирский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа, Россия

³Южно-уральский ботанический сад-институт Уфимского федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа, Россия

* e-mail: gladkih4leksandar@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.08.2024 г.

После доработки 14.01.2025 г.

Принята к публикации 15.01.2025 г.

Данная статья посвящена изучению изменений активности антиоксидантных ферментов и фенолоксидазного каскада в кишечнике у таракана *Rychnoscelus nigra* (Brunner von Wattenwyl, 1865) при адаптации к новым пищевым субстратам. Было выбрано несколько различных пищевых субстратов. Основная цель работы — изучить динамику активности ферментов тараканов в период адаптации к новым пищевым субстратам. В разных временных точках измерялась активность фенолоксидазы, каталазы и пероксидазы в кишечнике таракана. Для определения удельной активности ферментов посредством оптической плотности применяли методы спектрофотометрии. Во время эксперимента измерялись морфометрические параметры популяций для оценки их состояния. Выявлена различная степень активности ферментов, в зависимости от этапа эксперимента и рациона. Имеются некоторые закономерности адаптации к новым пищевым субстратам. Тараканы испытывали разную степень стресса, что отражалось на морфометрических характеристиках особей. Понимание процесса адаптации насекомых к новым рационам может в перспективе помочь бороться с распространением насекомых-вредителей, а также использовать насекомых в биотехнологии.

Ключевые слова: ферментативная активность, кишечник насекомых, *Blattodea*, *Rychnoscelus*, фенолоксидазные защитные системы, антиоксидантные защитные системы

DOI: 10.31857/S0044452925010046, **EDN:** CGWLHU

ВВЕДЕНИЕ

Многие виды тараканов являются синантропными и способны быстро приспосабливаться к изменяющимся условиям в антропогенных экосистемах [1]. Тараканы способны использовать в качестве пищи широкий спектр различных субстратов, в том числе малопригодных для питания и насыщенных патогенными микроорганизмами [2]. Пищеварительная и выделительная системы тараканов обеспечивают одновременно эффективное устранение токсинов и накопление нутриентов [3].

В качестве объекта исследования были выбраны тараканы *P. nigra* (Brunner, 1865). Данный вид встречается на территории Юго-Восточной Азии, где обитает на нижних ярусах влажных тропических и субтропических лесов [4], а также встречается в некоторых пещерах [5]. Они питаются преимущественно отмершими частями растений, включая

лиственной опад, реже — живыми растениями, также в их рацион входят различные остатки животного происхождения — от падали до помета. Эти тараканы предпочитают закапываться, так как представителей рода *Rychnoscelus* также часто встречают в скоплениях мусора [6].

P. nigra может использоваться в качестве модельного объекта, это удобно с точки зрения изучения влияния внешних факторов, так как для этого вида характерен партеногенез [7]. Самки размножаются без участия самца, все новые особи являются генетическими копиями материнского организма. В случае если все особи обладают одинаковым генотипом, то их морфометрические, физиологические и биохимические характеристики сходны, поэтому партеногенетические организмы крайне удобны для отслеживания влияния фактора среды на организм и популяцию в целом [8].

У насекомых нет специфического иммунитета с образованием антител по типу иммунитета позвоночных [9]. Устойчивость насекомых к воздействию патогенов и адаптации к изменяющимся условиям среды обеспечивается комплексом врожденных иммунных реакций и различных ферментных каскадов [10].

Одним из защитных механизмов насекомых является инкапсуляция и связанные с ней процессы меланизации. Образующаяся в результате каскада реакций меланиновая капсула способна блокировать поглощение питательных веществ и привести к гибели патогена [11]. Важным ферментом в данном каскаде реакций является фенолоксидаза [12]. Она катализирует окисление тирозина и дифенолов, в частности дигидроксифенилаланин (ДОФА), до хинонов. Побочными продуктами этих реакций является образование активированных кислородных метаболитов, (АКМ) обладающих цитотоксическим действием [13, 14]. АКМ являются важным звеном такой реакции как “оксидативный взрыв” в гемоцитах насекомых [13]. Однако избыточное содержание АКМ всегда является потенциально опасным для клеток и тканей организма [14]. Все аэробные организмы имеют антиоксидантную систему (АОС), обезвреживающую и утилизирующую излишки АКМ [15]. Изучение механизмов клеточного и гуморального иммунитета насекомых указывают на участие АКМ и АОС в иммунных реакциях. Было отмечено, что введение чужеродных объектов в организм приводит к повышению концентрации АКМ и активации АОС [16].

Резкая смена рациона может привести к окислительному стрессу. Избыток окислителей и/или недостаток антиоксидантов приводит к окислительному стрессу, который может привести к неконтролируемому перекисному окислению липидов, окислению белков и даже апоптозу. У травоядных насекомых ситуация усугубляется поглощением прооксидантных веществ в составе растений, которые приводят к усилению окислительного стресса [17]. Насекомые должны поддерживать в кишечнике условия, которые позволяют им максимально извлекать питательные вещества из растительных тканей, сводя к минимуму вредное воздействие прооксидантных вторичных метаболитов растений [18].

Изучение биохимических защитных механизмов тараканов при адаптации к новым пищевым субстратам может помочь в борьбе с синантропными видами насекомых, включая вредителей сельского хозяйства [18]. Понимание процессов адаптации насекомых к новым источникам питания может помочь выявить их слабые стороны и разработать новые препараты борьбы с ними. Также это может помочь в борьбе с интродуцентами, которые только адаптируются к новой среде.

Тараканы рода *Pycnoscelus* перспективны для применения в биотехнологиях [19]. С помощью этих тараканов можно перерабатывать некоторые органические отходы, особенно пищевые отходы и сельскохозяйственные, при этом получая удобрения и белковое сырье [20]. Некоторые бактериальные штаммы симбионтной микробиоты кишечника данного таракана могут быть использованы для создания биопрепаратов для компостирования отходов, а сама микробиота может быть модифицирована [21].

Цель данной работы — изучить показатели активности антиоксидантных и фенолоксидазных защитных систем в кишечнике таракана *P. nigra* при адаптации к разным пищевым субстратам и сопоставить с морфометрическими характеристиками для выявления общих закономерностей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Жизненный цикл тараканов *P. nigra* включает от 6 до 7 стадий нимф и стадию имаго [22]. Есть данные, что у других видов данного рода внутри разных партеногенетических популяций может варьироваться количество стадий нимф [23]. В данном эксперименте использовалась популяция тараканов, которая содержится в стабильных лабораторных условиях в течение 10 лет и получена от одной исходной особи, для этой популяции характерно 7 стадий нимф. Самка способна воспроизвести около 70–100 тараканов, 3–4 раза выносить оотеку, в которой от 24 до 30 яиц (обычно 24 яйца в два ряда по 12 в оотеке), самки вынашивают яйца внутри себя в течение 1 месяца, дополнительная инкубация не требуется. [24]. По нашим наблюдениям, нимфам первой стадии требуется около 5–6 месяцев, чтобы достичь взрослой стадии. Имаго же живут обычно около 6–8 месяцев. Данный вид тараканов приспособлен к питанию листовым опадом и растительными остатками.

Тараканы содержались в пластиковых контейнерах с вентиляцией, половина объема которых заполнялась кокосовой крошкой (измельченное волокно из межплодника орехов кокосовой пальмы). Кокосовая крошка — один из оптимальных вариантов содержания этих тараканов, она имеет рыхлую структуру и долго удерживает влагу, защищая тараканов от пересыхания, позволяя им закапываться [25]. Температура содержания поддерживалась в пределах 22–25°C, кокосовый субстрат смачивался для поддержания влажности в контейнере на уровне 80–90%. Пищевой субстрат помещали в контейнер на поверхность кокосовой крошки. По мере поедания добавлялся новый пищевой субстрат.

Изначально все тараканы содержались в общем контейнере (50 л) и питались листьями дуба

черешчатого (*Quercus robur* L.). Из общей группы изымалось по сорок имаго. Отобранные особи помещались в отдельный двухлитровый контейнер, заполненный кокосовой крошкой и пищевым субстратом. В дальнейшем они питались соответственно варианту опыта. Через определенный промежуток времени из опытных групп изымались имаго для измерения активности ферментов: через один день после перехода на моносубстрат, спустя неделю, спустя месяц в первом и спустя полгода во втором поколении. То есть в первых трех временных точках измеряли активность ферментов у первого поколения, которое во взрослом состоянии было вынуждено адаптироваться к новым пищевым субстратам, а во временной точке спустя полгода оценивалась активность уже у второго поколения, которое появилось во время опыта и с начальной стадии питалось опытными вариантами.

Для опыта было выбрано несколько рационов. В качестве контроля использовался рацион из листьев дуба черешчатого (*Q. robur* L.). На протяжении 10 лет содержания в лаборатории исходная популяция тараканов питалась этим субстратом и полностью адаптировалась к нему. Листовой опад дуба может долго храниться и не портиться, его используют для кормления различных растительноядных членистоногих, содержащихся в искусственных условиях [26]. В качестве опытных субстратов были выбраны четыре варианта: хвоя сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), смесь сухого помета домашних кур (*Gallus gallus domesticus* L.) с листовым опадом дуба (*Q. robur* L.) в пропорции 1:1 (так как при использовании чистого помета тараканы погибают), корнеплоды моркови (*Daucus carota* subsp. *sativus* L.), фильтровальная бумага.

Кишечник целиком извлекали из тела таракана, его очищали от фрагментов жирового тела и мальпигиевых сосудов и промывали в буфере от остатков пищи, затем гомогенизировали в охлажденном до 4°C ацетатном буфере ($M = 0.05$; рН 5) при определении активности фенолоксидазы и пероксидазы и в трис-НСI буфере ($M = 0.025$; рН 7.4) при определении активности каталазы. Гомогенат центрифугировали при 5000 оборотов/мин на центрифуге erpendorf centrifuge 5810 г в течение 15 мин [27].

Активность дифенолоксидазы (о-дифенол: O2 оксидоредуктаза НФ 1.10.3.1) оценивали по скорости окисления L-дигидроксибензилаланина (L-ДО-ФА) [28]. Оптическую плотность измеряли при 475 нм. В 50 мкл гомогената добавляли раствор L-ДО-ФА в ацетатном буфере и инкубировали 5 мин при 37°C на водяной бане, измеряя оптическую плотность до и после инкубации. Удельную активность фермента выражали в ед. акт./мин/мг белка.

Активность пероксидазы (донор: перекись водорода-оксидоредуктаза НФ 1.11.1.7) оценивали

по скорости окисления бензидина [29]. Смешивали 1 мл гомогената с 1 мл бензидина в ацетатном буфере, оптическую плотность измеряли при 540 нм, затем добавляли 1 мл перекиси водорода, инкубировали 1 мин и измеряли повторно. Удельную активность фермента выражали в ед. акт./мин/мг белка.

Активность каталазы (перекись водорода: перекись водорода-оксидоредуктаза ЕС 1.11.1.6) определяли по скорости разложения перекиси водорода, реакцию останавливали добавлением 4% раствора молибдата аммония [30]. В опытной пробе смешивали 100 мкл гомогената и 2 мл 0.03% раствора перекиси водорода. Оптическую плотность измеряли при 410 нм. Удельную активность фермента выражали в нМ/мин/мг белка.

Для измерения оптической плотности реакционных смесей использовали спектрофотометр BioSpec-mini (Shimadzu, Япония).

Концентрацию белка определяли по Бредфорду [31], при построении градуировочного графика в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин.

Для измерения морфометрических характеристик использовалась методика, применяемая ранее в работе с этими тараканами [24, 32].

Так как первое поколение было уже в стадии имаго на момент начала опыта и имела сходные размеры, морфометрические характеристики приводятся для имаго второго поколения. У 30 подопытных насекомых измеряли длину и ширину головы, длину и ширину переднеспинки, длину и ширину тела в целом, а также определяли индекс тела (соотношение длины тела к ширине). Достоверность различия признаков между опытными популяциями и с контрольной определяли при помощи t-критерия Стьюдента [33].

Выявление корреляций между изменениями изучаемых признаков в подопытных группах проводили с использованием критерия корреляции Пирсона r [33]. В литературе отсутствует общепринятая шкала градаций значений критерия корреляции Пирсона [34], в связи с чем мы опирались на следующую категориальную шкалу для интерпретации величины корреляции: $|r| \leq 0.1$ — слабая, $0.1 < |r| < 0.5$ — средняя и $|r| \geq 0.5$ — высокая.

Активность ферментов определяли в пятикратной повторности. Для проверки достоверности различий между наблюдаемой активностью ферментов на разных этапах эксперимента использовали дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса непараметрический аналог дисперсионного анализа, и критерий Дункана [33], в программе Statistica 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе мониторинга активности ферментов в подопытных группах были выявлены различные пат-

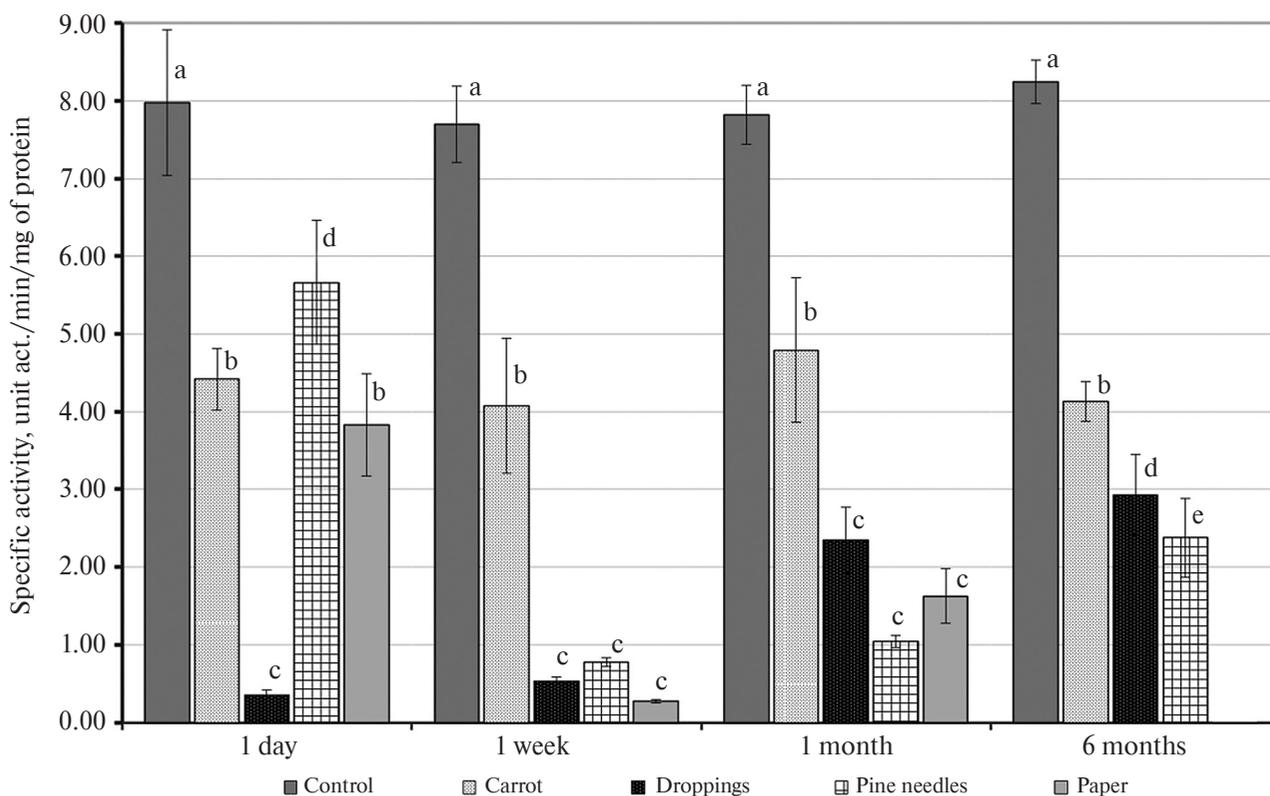


Рис. 1. Активность фенолоксидазы: значения активности, значительно различающиеся между собой ($p < 0.05$), на рисунке обозначены латинскими буквами (a, b, c, d, e). Различия внутри групп, обозначенных одной буквой, статистически незначимы.

терны изменения активности фенолоксидазы на новых для тараканов пищевых субстратах (рис. 1).

При кормлении пометом активность фенолоксидазы возросла почти в 6 раз спустя полгода (до 2.76 ± 0.59 , ед. акт./мин/мг белка, $p < 0.001$) по сравнению с низкими значениями в первую неделю (0.47 ± 0.11 , ед. акт./мин/мг белка).

У тараканов, питавшихся хвоей, активность фенолоксидазы в первый день (5.51 ± 0.91 , ед. акт./мин/мг белка) была на 30% ниже, чем в контроле, затем к концу первой недели значения падали семикратно (до 0.77 ± 0.42 , ед. акт./мин/мг белка). По прошествии месяца и до полугода активность возрастала сначала до 1.05 ± 0.08 ед. акт./мин/мг белка, а затем до 2.38 ± 0.35 ед. акт./мин/мг белка соответственно. Несмотря на рост, эти показатели были в 7 и 3.5 раз ниже активности, наблюдаемой у контрольной группы. Указанные изменения активности фенолоксидазы во времени были статистически значимы на уровне $p < 0.01$.

В колонии, питавшейся бумагой, наблюдался схожий паттерн активности фенолоксидазы: относительно высокий уровень в первый день (3.88 ± 0.75 , ед. акт./мин/мг белка), затем падение в 14 раз до колонулевых значений на исходе первой недели эксперимента (0.27 ± 0.52 ед. акт./мин/мг белка). По про-

шествии месяца с начала исследования наблюдался рост активности до 1.63 ± 0.50 ед. акт./мин/мг белка. Эти изменения были статистически достоверны на уровне $p < 0.01$. Долговременное кормление бумагой оказалось неблагоприятным для данных насекомых, и привело к гибели подопытной популяции между временными точками спустя месяц и спустя полгода. Однако немногочисленное второе поколение успело стать имаго, но так и не дало потомство.

Дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса показал, что при кормлении листовым опадом дуба (контроль) по прошествии полугода значимых изменений активности фенолоксидазы в кишечнике тараканов не наблюдалось ($p = 0.43$). При этом на протяжении всего опыта контрольная группа проявляла наиболее высокую среднюю активность фенолоксидазы (7.94 ± 0.64 , ед. акт./мин/мг белка).

При кормлении морковью средняя активность фенолоксидазы также не показала значимых изменений ($p = 0.49$), но в среднем принимала меньшие значения (на уровне 4.41 ± 0.77 , ед. акт./мин/мг белка, меньше в 1.8 раз по сравнению с контролем).

Мониторинг активности каталазы в популяциях тараканов, питавшихся различными субстратами, также выявил различные паттерны активности фермента во времени (рис. 2).

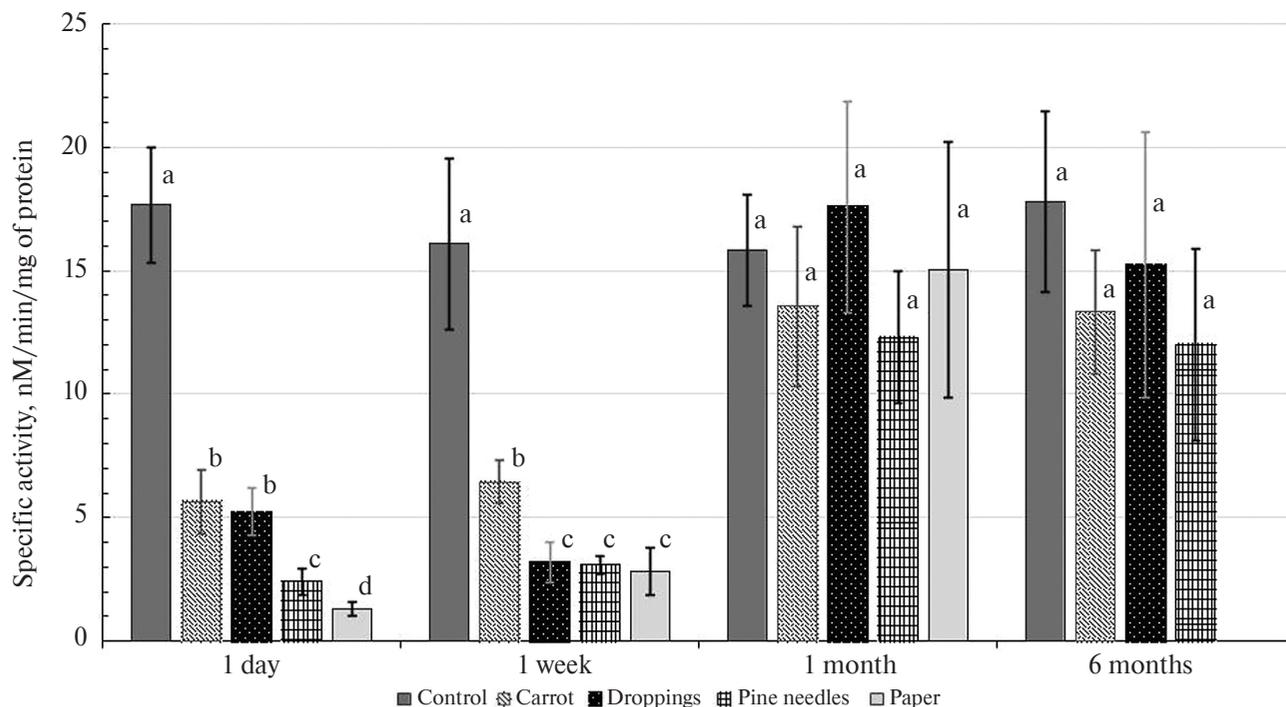


Рис. 2. Активность каталазы: Значимые различия значения активности, значимо различающиеся между собой ($p < 0.05$), на рисунке обозначены латинскими буквами (a, b, c, d). Различия внутри групп, обозначенных одной буквой, статистически незначимы.

Во всех опытных сериях при встрече с новым субстратом наблюдалось кратное снижение активности каталазы в сравнении с контрольной группой. Наиболее выраженное снижение наблюдалось в опыте с бумагой — в 13 раз меньше, чем в контрольной группе (1.29 ± 0.32 нМ/мин/мг белка, $p < 0.01$). В опыте с хвоей наблюдалось снижение в 6 раз (2.40 ± 0.62 нМ/мин/мг белка, $p < 0.01$). В опытах с морковью и куриным пометом наблюдалось снижение в 3 раза (5.65 ± 1.49 и 5.24 ± 1.09 нМ/мин/мг белка, $p < 0.01$).

В конце первой недели наблюдалось снижение активности каталазы в 1.6 раз у популяции, питавшейся пометом (до 3.18 ± 0.93 нМ/мин/мг белка), у прочих подопытных популяций был выявлен прирост активности фермента.

Через месяц активность каталазы вышла на плато и не показывала значимых изменений. Спустя полгода в подопытных популяциях показатели варьируются в диапазоне от 12.00 ± 4.41 нМ/мин/мг белка при кормлении хвоей до 17.57 ± 4.89 нМ/мин/мг белка при кормлении пометом. Значимых отличий не наблюдалось и от контрольной популяции ($p = 0.33$). Активность каталазы в кишечнике тараканов при кормлении листовым опадом дуба (контроль) не претерпела значимых изменений ($p = 0.66$) за весь срок наблюдений.

Подобно активности вышеуказанных ферментов, активность пероксидазы по отношению к изу-

чаемым субстратам также проявлялась по-разному. В опытах с хвоей активность пероксидазы в конце месяца десятикратно снизилась по сравнению с показателями в конце первой недели: с 16.27 ± 2.31 до 1.59 ± 0.43 ед. акт./мин/мг белка в опыте с хвоей и последующим ростом до 2.31 ± 0.22 ед. акт./мин/мг белка спустя полгода от начала опыта ($p < 0.001$).

Многочисленное падение активности пероксидазы в конце первого месяца наблюдалось в опыте с бумагой: с 11.50 ± 3.06 до 0.17 ± 0.03 ед. акт./мин/мг белка ($p < 0.01$).

На общем фоне резко выделилась опытная серия с морковью, активность пероксидазы в которой превышала активность в контроле трехкратно, а в иных опытных сериях в десятки раз, достигая пика в 130.86 ± 30.43 ед. акт./мин/мг белка к концу первой недели с последующим снижением к 83.41 ± 25.19 ед. акт./мин/мг белка на конец полугодия ($p < 0.01$).

В опытах с морковью, хвоей и бумагой наблюдалось повышение активности пероксидазы от начальных значений к концу первой недели с последующим снижением спустя месяц, сохраняющимся через полгода наблюдений (рис. 3).

Активность пероксидазы в кишечнике тараканов при кормлении листовым опадом дуба (контроль) по оценке с помощью дисперсионного анализа Краскала–Уоллиса за период наблюдений не претерпела значимых изменений ($p = 0.29$), пребывая в диапазоне 31.51 ± 3.08 — 26.22 ± 4.22 ед. акт./мин/мг белка.

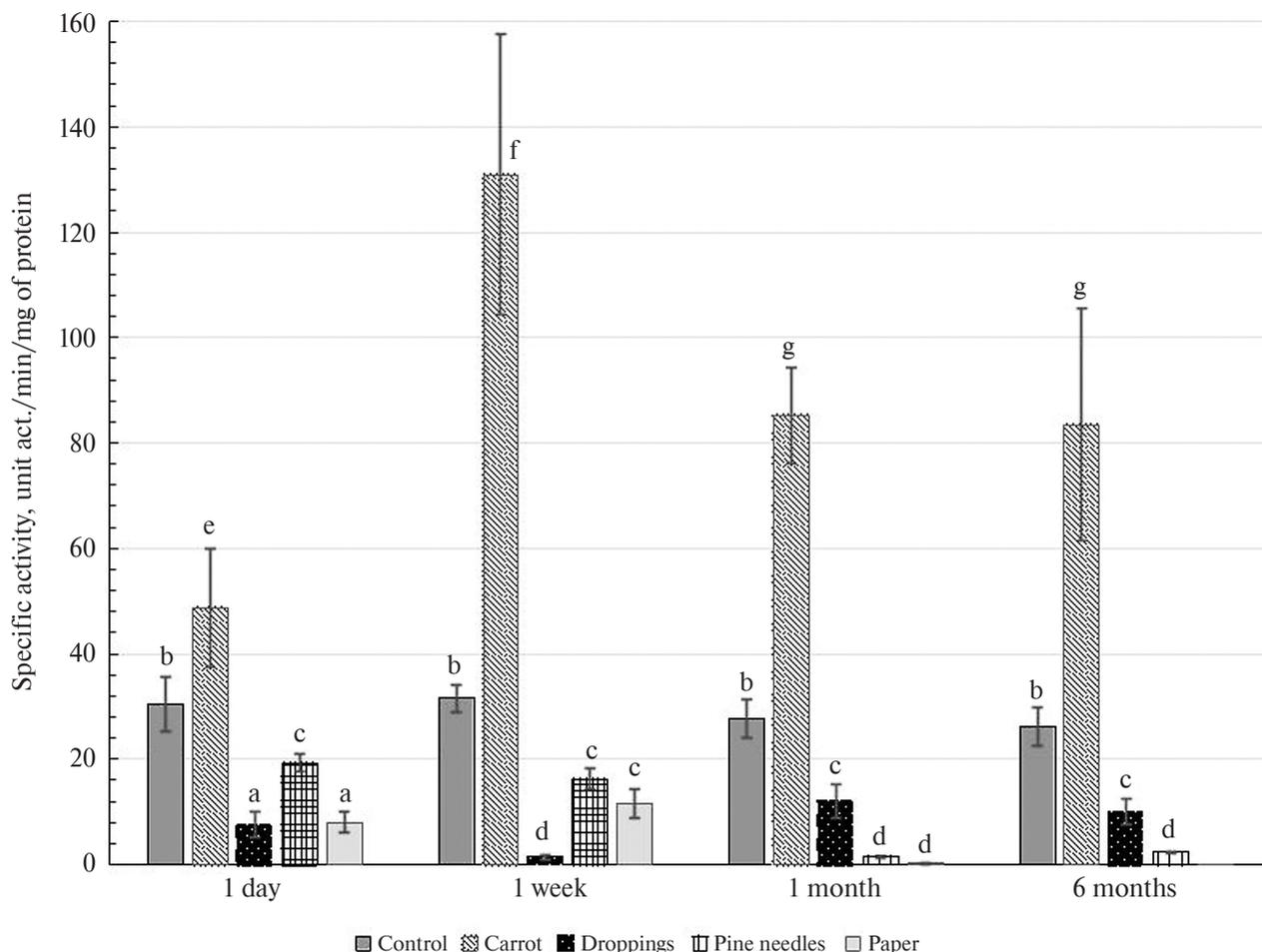


Рис. 3. Активность пероксидазы: значения активности, значимо различающиеся между собой ($p < 0.05$), на рисунке обозначены латинскими буквами (a, b, c, d, e, f, g). Различия внутри групп, обозначенных одной буквой, статистически незначимы.

При кормлении пометом активность пероксидазы падала в 5 раз с 7.59 ± 2.63 ед. акт./мин/мг белка в первый день до 1.43 ± 0.46 ед. акт./мин/мг белка по окончании первой недели опыта. По прошествии месяца и полугодия активность восстанавливалась до 11.97 ± 3.67 — 10.04 ± 2.76 ед. акт./мин/мг белка. ($p < 0.01$)

Корреляционный анализ показал высокую степень прямой корреляции между активностью каталазы и пероксидазы в опытной серии с пометом (0.892) и обратной в опытных сериях с бумагой (-0.996) и хвоей (-0.917) и отсутствие выраженной корреляции между активностью этих ферментов в контрольной группе и в опыте с морковью.

Между активностью каталазы и фенолоксидазы наблюдалась сильная корреляция в контрольной серии (0.866) и опыте с пометом (0.934), средняя в опытах с морковью (0.366) и средняя обратная с хвоей (-0.438). Сильная прямая корреляция наблюдалась в опыте с пометом (0.738) и сильная — в опыте с хвоей (0.507), обратная корреляция наблюдалась

между активностью пероксидазы и фенолоксидазы в контрольной серии (-0.700) и средняя — в опыте с морковью (-0.439).

У особей, питавшихся морковью и хвоей, наблюдались размерные характеристики (табл. 1), близкие по значениям к контрольной группе без значимых отличий по параметрам головы и переднеспинки, и несколько большей длине тела — 26.12 ± 0.23 мм при кормлении морковью, и 24.87 ± 1.23 мм при кормлении хвоей против 24.24 ± 0.77 мм при кормлении дубовым опадом ($p < 0.001$ и $p < 0.01$).

При этом тело имаго становилось несколько более вытянутым, что отразилось в увеличении индекса тела — 2.89 ± 0.07 при кормлении морковью и 2.94 ± 0.14 при кормлении хвоей против 2.72 ± 0.18 при кормлении дубовым опадом ($p < 0.001$ и $p < 0.001$).

Особь, питавшиеся пометом и бумагой, демонстрировали наименьшие размеры тела в целом — 17.85 ± 0.56 мм и 15.66 ± 0.56 мм ($p < 0.001$), что меньше контроля на 27% и 36% соответственно

Таблица 1. Морфометрические характеристики тараканов

	Голова		Переднеспинка		Тело		Индекс тела
	Длина, мм	Ширина, мм	Длина, мм	Ширина, мм	Длина, мм	Ширина, мм	
Контроль листья дуба	3.56 ± 0.24	2.49 ± 0.23	5.51 ± 0.28	6.73 ± 0.31	24.23 ± 0.77	8.94 ± 0.68	2.72 ± 0.18
Морковь	3.70 ± 0.19	2.59 ± 0.29	5.48 ± 0.35	6.70 ± 0.24	26.12 ± 0.23	9.05 ± 0.22	2.89 ± 0.07
Помёт птиц	3.21 ± 0.24	2.20 ± 0.21	5.31 ± 0.25	6.43 ± 0.21	17.85 ± 0.56	6.74 ± 0.71	2.67 ± 0.28
Хвоя	3.60 ± 0.27	2.47 ± 0.33	5.61 ± 0.41	6.59 ± 0.38	24.87 ± 1.23	8.47 ± 0.25	2.94 ± 0.14
Бумага	3.10 ± 0.24	2.11 ± 0.18	5.25 ± 0.25	6.28 ± 0.23	15.66 ± 0.56	5.80 ± 0.71	2.75 ± 0.40

($p < 0.001$ и $p < 0.001$); при этом пропорции их тел не проявляли статистически значимых отличий от пропорций контрольных насекомых.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В эксперименте наблюдались различные варианты динамики активности каталазы, пероксидазы и фенолоксидазы. Активность каталазы при смене кормового субстратакратно падала с последующим восстановлением до уровня, сопоставимого с контрольными значениями. Причиной этого может служить адаптация тараканов к смене кормового субстрата и противодействие окислительно-восстановительному стрессу.

Активность пероксидазы в опытных серияхкратно снижалась в сравнении с контролем, за исключением опытной серии с морковью. В варианте опыта с морковью наблюдалось резкое повышение активности пероксидазы, что может быть связано с активностью пероксидазы самой моркови в ответ на повреждение ее клеток [35]. Снижение активности пероксидазы в опыте с хвоей по прошествии месяца и полугодия может объясняться наличием в хвое фенольных и иных соединений, угнетающих рост бактерий [36–38]. Отмечена сильная обратная корреляция между активностью каталазы и пероксидазы при кормлении хвоей, которая может быть следствием угнетения микробиоты пищеварительной системы тараканов фитонцидами.

Активность фенолоксидазы в опыте с морковью оставалась стабильно ниже контрольного уровня и снижалась в опытах с пометом, хвоей и бумагой с последующим восстановлением.

Высокая активность фенолоксидазы в контрольной серии может быть вызвана потребностью в расщеплении большого количества дубильных веществ, содержание которых может достигать 5% сухой массы листвы дуба [39].

В опытной серии с пометом проявилась сильная прямая корреляция между активностью всех трех ферментов, отражающая рост активности этих ферментов после первоначального снижения. При этом помёт как субстрат животного происхождения, бо-

гатый азотистыми соединениями [40], наиболее отличается от прочих кормов, имеющих растительное происхождение, и требует более серьезной адаптации со стороны пищеварительной системы тараканов.

В варианте опыта с бумагой наблюдается снижения активности фенолоксидазы в первую неделю опыта, с последующим восстановлением и повышением в течение месяца. Активность каталазы резко понижается спустя сутки начала опыта, затем повышается на протяжении всего опыта и достигает сопоставимых с другими вариантами величин. В случае с пероксидазой наблюдаются низкие показатели активности в первую неделю с последующим понижением через месяц. Указанные изменения активности могут быть обусловлены бедностью бумаги азотистыми соединениями, что нарушает деятельность микробиоты кишечника тараканов, что, в свою очередь, способствует гибели тараканов.

Размерные характеристики имаго тараканов при кормлении морковью и хвоей несколько превышали таковые при кормлении листвой дуба, в частности, демонстрируя более вытянутую форму тела, что может быть обусловлено увеличением размеров жирового тела. При кормлении пометом и бумагой тело имаго достигало меньших размеров, и не наблюдалось вытягивания тела, что свидетельствует о более низком усвоении этих питательных субстратов.

Наиболее благоприятным субстратом оказалась морковь, также хорошие результаты были получены на сосновой хвое и листьях дуба. Худшие результаты были показаны в вариантах опыта с пометом, а также с бумагой.

Таким образом, различные кормовые субстраты оказывают различное воздействие на активность антиоксидантных и фенолоксидазных защитных систем в кишечнике тараканов *P. nigra*. При этом наиболее благоприятными для жизнедеятельности тараканов оказались морковь, сосновая хвоя и листья дуба. Жизнедеятельность угнетают как избыточно богатые азотом кормовые субстраты (помёт), так и бедные (бумага). Более глубокое понимание этой проблемы может быть достигнуто при изучении микробиоты кишечника тараканов *P. nigra*.

ВКЛАД АВТОРОВ

Основная идея и планирование эксперимента (Г.А.Н.), обсуждение результатов исследования (Г.А.Н., С.Е.С., Г.Л.Р., Х.Д.А.), написание и подготовка публикации (Г.А.Н., Х.Д.А.); пробоподготовка и проведение лабораторного анализа образцов (Г.А.Н.), анализ и статистическая обработка полученных данных (Х.Д.А.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках гос. задания № 1022040500077-6 с использованием ресурсов ЦКП УФИЦ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boneva B, Marutsov P, Zhelev G (2023) A survey of the distribution of synanthropic cockroaches in animal farms and food processing plants in Bulgaria. *Trakia J Sci* 21 (3): 217.
2. Naher A, Afroz S, Hamid S (2018) Cockroach associated foodborne pathogens: Distribution and antibiogram. *Bangladesh Med Res Counc Bull* 44 (1): 30–38.
3. Mullins D (2015) Physiology of Environmental Adaptations and Resource Acquisition in Cockroaches. *Ann Rev Entomol* 60 (1): 473–492.
4. Princis K (1964) *Blattariae*: Subordo Blaberoidea: Fam.: Panchloridae, Gynopeltidae, Derocalymmidae, Perisphaeriidae, Pycnoscelidae. In: Beier, M. (Ed.). *Orthopterorum Catalogus*. Pars 6. W. Junk, 's-Gravenhage: 174–281.
5. Roth LM, Willis ER (1960) The biotic associations of cockroaches. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, Washington D.C.
6. Roth LM, Willis ER (1957) The medical and veterinary importance of cockroaches. *Smithsonian Miscellaneous Collections*, Washington D.C.
7. Gade B, Parker Jr ED (1997) The effect of life cycle stage and genotype on desiccation tolerance in the colonizing parthenogenetic cockroach *Pycnoscelus surinamensis* and its sexual ancestor *P. indicus*. *J Evol Biol* 10 (4): 479–493.
8. Martin P, Kohlmann K, Scholtz G (2007) The parthenogenetic Marmorckrebs (marbled crayfish) produces genetically uniform offspring. *Naturwissenschaften* 94: 843–846.
9. Zakharova LA (2009) Evolution of adaptive immunity. *Biol Bull* 36 (2): 107–116. <https://doi.org/10.1134/S1062359009020034>
10. Гайфуллина ЛР, Салтыкова ЕС, Николенко АГ (2006) Структура и механизмы гуморального иммунитета насекомых. *Усп соврем биол* 126 (6): 592–604. [Gai-fullina LR, Saltykova ES, Nikolenko AG (2006) The structure and mechanisms of humoral immunity in insects. *Usp sovrem biol* 126 (6): 592–604 (In Russ.)]
11. Chen CC, Chen CS (1995) *Brugia pahangi*: Effects of mel-anization on the uptake of nutrients by microfilariae in vitro. *Exp Parasitol* 81: 72–78.
12. Eleftherianos I, Revenis C (2011) Role and importance of phenoloxidase in insect hemostasis. *J Innate Immun* 3: 28–33.
13. Whitten MM, Ratcliffe NA (1999) In vitro superoxide activity in the haemolymph of the West Indian leaf cockroach, *Blaberus discoidalis*. *J Insect Physiol* 45 (7): 667–675.
14. Bensaad K, Cheung EC, Vousden KH (2009) Modulation of intracellular ROS levels by TIGAR controls autophagy. *EMBO J* 28(19): 3015–3026
15. Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci* 9 (10): 490–498.
16. Меньщикова ЕБ, Зенков НК, Шергин СМ (1994) Биохимия окислительного стресса. Оксиданты и антиоксиданты. Новосибирск: Издательство СО РАН.
17. Felton GW, Summers CB (1995) Antioxidant systems in insects. *Archiv Insect Biochem Physiol* 29 (2): 187–197
18. Krishnan N, Kodrik D (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress? *J Insect Physiol* 52 (1): 11–20.
19. Gowrisankar R, Sumithramma N, Mulimani V, Pradhan SK, Gundreddy R. (2023) Blatticomposting: A Sustainable Approach for Organic Waste Management. *Int J Env Climate Change* 13 (9): 754–762.
20. Гладких АН (2018) Влияние биогумуса *Pycnoscelus nigra* (Brunner) на развитие *Pisum sativum* (L.) в водных культурах. Актуальные проблемы экологии и природопользования в современных условиях: Материалы Международной научно-практической конференции. 2: 232–235.
21. Stupak EE, Gilvanova EA, Gladkikh AN (2021) *Bacillus pumilus* as a supplement for waste recycling by insect. *In OP Conference Series: Earth Environment Sci* 666 (4). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/666/4/042092>
22. Дремова ВП, Алешио НА (2011) Тараканы. Биология, экология, санитарно-эпидемиологическое значение, контроль численности синантропных тараканов. М.: Товарищество научных изданий КМК.
23. Parker Jr ED, Niklasson M (1995) Desiccation resistance among clones in the invading parthenogenetic cockroach, *Pycnoscelus surinamensis*: a search for the general-purpose genotype. *J Evol Biol* 8 (3): 331–337.
24. Гладких АН (2017) Морфометрические характеристики и особенности экологии тараканов *Pycnoscelus nigra* в условиях неволи. Биология будущего: материалы конференции 3: 40–41.
25. Reddi G. Studies on the Biology and Substrate Preference of the Burrowing Cockroach, *Pycnoscelus surinamensis* (Linn.) (Blaberidae: Blattodea). Dissertation, University of Agricultural Sciences, Bangalore.
26. Компанцева ТВ (2004) Особенности содержания в культуре некоторых пластинчаточных жуков (Coleoptera, Scarabaeidae). Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков. Материалы Второго Междуна-

- родного семинара, г. Москва, 15–20 ноября 2004 г.: Межвед. сб. науч. и науч.-метод. тр.-М.: Московский зоопарк. 15: 93.
27. *Saltykova ES, Karimova AA, Gataullin AR, Gaifullina LR, Matniyazov RT, Frolova MA, Albulov AI, Nikolenko AG* (2016) The effect of high-molecular weight chitosans on the antioxidant and immune systems of the honeybee. *Applied Biochemistry and Microbiology* 52: 553–557
 28. *Rauschenbach IYu* (1997) Stress response in insects: mechanism, genetic control, and role in adaptation. *Russ J Genet* 33 (8): 1110–1118.
 29. *Бояркин АН* (1951) Быстрый метод определения активности пероксидазы. *Биохимия* 16: 352–357.
 30. *Королюк МА, Иванова ЛИ, Токарева ИИ, Майорова ВЕ* (1988) Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело* 1: 16–19.
 31. *Scopes RK* (1993) Protein purification: principles and practice. Springer Science & Business media.
 32. *Roth LM* (1998) The cockroach genus *Pycnoscelus* Scudder, with a description of *Pycnoscelus femapterus*, sp. nov. (Blattaria: Blaberidae: Pycnoscelinae). *Oriental Insects* 32 (1): 93–130.
 33. *Glantz SA* (1997) Primer of biostatistics. McGraw-Hill, Health Professions Division.
 34. *Котеров АН, Ушенкова ЛН, Зубенкова ЭС, Калинина МВ, Бирюков АП, Ласточкина ЕМ, Молодцова ДВ, Вайнсон АА* (2019) Сила связи. Сообщение 2. Градации величины корреляции. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 64 (6): 12–24.
 35. *Gonçalves EM, Pinheiro J, Abreu M, Brandão TR, Silva CL* (2010) Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. *Journal of Food Engineering* 97(4): 574–581.
 36. *Popescu Di, Frum A, Dobrea CM, Cristea R, Gligor FG, Vicas LG, Ionete RE, Sutan NA, Georgescu C* (2023) Comparative antioxidant and antimicrobial activities of several conifer needles and bark extracts. *Pharmaceutics* 16 (1): 52.
 37. *Zeng WC, He Q, Sun Q, Zhong K, Gao H* (2012) Antibacterial activity of water-soluble extract from pine needles of *Cedrus deodara*. *International journal of food microbiology* 153 (1-2): 78–84.
 38. *Lee J, Kang HK, Cheong H, Park Y* (2021) A novel antimicrobial peptides from pine needles of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. against foodborne bacteria. *Front Microbiol* 12: 662462.
 39. *Feeny PP, Bostock H* (1968) Seasonal changes in the tannin content of oak leaves. *Phytochemistry* 7 (5): 871–880.
 40. *Nahm KH* (2003) Evaluation of the nitrogen content in poultry manure. *World's Poultry Sci J* 59 (1): 77–88.

ANTIOXIDANT AND PHENOLOXIDASE PROTECTIVE SYSTEMS ACTIVITY IN THE GUT OF *PYCNOSCELUS NIGRA* (BRUNNER, 1865) ROACHES ON DIFFERENT FOOD SUBSTRATES

A. N. Gladkih^{a, b, *}, D. A. Khaliullin^c, L. R. Gaifullina^a, E. S. Saltykova^a

^a*Institute of biochemistry and genetics of Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

^b*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia*

^c*South-Ural Botanical Garden-Institute of Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

* e-mail: gladkih4leksandar@yandex.ru

This paper investigates changes in the activity of antioxidant enzymes and the phenoloxidase cascade in the *Pycnoscelus nigra* (Brunner von Wattenwyl, 1865) roach gut in adaptation to new food substrates. Several different food substrates were chosen. The primary goal of the paper was to examine enzyme activity dynamics of the roaches during their adaptation to new food substrates. Phenoloxidase, catalase and peroxidase activity in roach gut was measured at different points in time. Spectrophotometry was utilized to determine enzyme specific activities via optical density. During the experiment the morphometric parameters of the roaches were measured. Various degrees of enzyme activity were observed depending on the experiment stage and food substrates. Certain patterns of adaptation to new food substrates were shown. The roaches experienced varying degrees of stress reflected in the morphometric parameters of individuals. Understanding the process of insect adaptation to new food substrates may perspective be useful in combating insect pest dispersal, as well as in insect biotechnology.

Keywords: enzyme activity, insect gut, Blattodea, *Pycnoscelus*, phenoloxidase protective systems, antioxidant protective systems