

Synergistic effect of pyrethroid insecticide and entomopathogenic fungus on *Daphnia magna* Straus

Yu.A. Noskov¹, E.A. Chertkova², O.V. Polenogova², O.N. Yaroslavtseva²

¹National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk, Russia

E-mail: yunoskov@gmail.com, tel.: 89234157501, <https://orcid.org/0000-0001-8752-3979>

Submitted: 04.11.2017. Accepted: 14.12.2017

The interaction between the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* and the pyrethroid insecticide esfenvalerate on *Daphnia magna* Straus was investigated. A synergy in the mortality of daphnids was detected after simultaneous treatment with sub-lethal doses of the fungus (1×10^5 conidia/ml) and esfenvalerate (0.1 mg/l). The defense strategies of daphnids infected by fungus and treated with esfenvalerate and untreated insects were compared to investigate the mechanisms of this synergy. Activity of enzymes of the detoxification system and concentration of dopamine were measured. We have shown changes in the activities of the enzymes and dopamine concentration of daphnids under combined treatment of esfenvalerate and fungus. Fungus enhanced activity of glutathione-S-transferase and non-specific esterase but did not affect the dopamine level. Esfenvalerate inhibited the activity of enzymes in the detoxification system and cause a rise in dopamine level. We assume that the suppression of the detoxification system may be one of the reasons of synergy between *M. robertsii* and esfenvalerate.

Key words: Pyrethroids; esfenvalerate; synergism; *Daphnia magna*; *Metarhizium robertsii*; detoxifying system; dopamine

Синергетическое действие пиретроидного инсектицида и энтомопатогенного гриба на *Daphnia magna* Straus

Ю.А. Носков¹, Е.А. Черткова², О.В. Поленогова², О.Н. Ярославцева²

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия

²Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск, Россия

E-mail: yunoskov@gmail.com, тел. 89234157501, <https://orcid.org/0000-0001-8752-3979>

Исследовано воздействие пиретроидного инсектицида на основе эсфенвалерата и энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii* на ветвистоусого рачка *Daphnia magna* Straus. Выявлен синергетический эффект в смертности дафний при совместной обработке токсикантами. В работе рассматривается влияние исследуемых веществ на активность ферментов детоксицирующей системы и концентрацию гормона стресса дафний и обсуждаются возможные механизмы возникновения синергизма.

Ключевые слова: пиретроиды; эсфенвалерат; синергизм; *Daphnia magna*; *Metarhizium robertsii*; детоксицирующая система; дофамин

Введение

Применение химических и биологических средств против насекомых-вредителей сельскохозяйственных культур и кровососущих насекомых неизбежно затрагивает множество нецелевых объектов (Wijngaarden et al., 2005; Pereira et al., 2009; Noskov et al., 2010; Sanchez-Bayo, 2012). Несмотря на целевую направленность действия некоторых инсектицидных препаратов, их применение зачастую приводит к негативным последствиям для организмов из разных систематических групп, вследствие как косвенного, так и прямого воздействия. В высоких дозах данные вещества могут приводить к гибели организмов, а в низких оказывать стрессирующее действие (Stapel, 2000; Desneux, 2007). Даже безопасные концентрации токсикантов, при их многократном поступлении, могут приводить к существенным перестройкам в структуре сообществ (Kurbatova, 2007; Daam et al., 2008). Одной из групп нецелевых объектов являются водные беспозвоночные, которые подвергаются воздействию различных препаратов в результате их смыва и сноса с обрабатываемых территорий в водные объекты. Кроме того, в некоторых случаях инсектициды могут целенаправленно вносить в водоёмы с целью регуляции численности кровососущих насекомых (Pridgeon et al., 2009). Воздействие поллютантов в низких дозах может оказывать стрессирующее воздействие на организм, что в свою очередь будет влиять на общий уровень резистентности организмов к паразитам. Вследствие снижения общего уровня резистентности, патогенными могут выступать не только специализированные паразиты, но и неспециализированные, которые в обычных условиях не оказывают негативного воздействия на водных беспозвоночных. Проблема влияния низких доз химических инсектицидов на устойчивость водных беспозвоночных к патогенным бактериям и грибам до настоящего времени практически не изучена. Во многих работах показан синергетический эффект в смертности насекомых при совместной обработке энтомопатогенными грибами и различными инсектицидами (Furlong, Groden, 2001; Serebrov et al., 2003; Russel et al., 2010; Jia et al., 2016; Tomilova et al., 2016; Fisher et al., 2016; Kryukov et al., 2017). При этом, лишь небольшая часть работ была посвящена изучению механизмов их синергетического действия. Показано, что сублетальные дозы многих инсектицидов могут приводить к изменению ряда показателей иммунной системы насекомых (James, Xu, 2012), в том числе связанных с защитой от грибных патогенов (Dubovskiy et al., 2010, 2013; Tomilova et al., 2016; Kryukov et al., 2017). Однако механизмы данных эффектов всё ещё остаются малоизученными. Целью исследования является изучение механизмов резистентности *Daphnia magna* при комбинированном воздействии пиретроидного инсектицида эсфенвалерата и энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii*.

Материал и методы

Объект исследования. В качестве модельного вида использовали ветвистоусого рачка *Daphnia magna* Straus из природной популяции. Рачков отбирали в озере в окрестностях г. Карасук (53°46'00.03" СШ, 78°03'47.81" ВД, Западная Сибирь, Новосибирская область) и выдерживали в лабораторных условиях не менее 24 часов. В опытах использовали фильтрованную озёрную воду из водоёма, откуда брали рачков. Для проведения экспериментов отбирали средних по размеру особей (1,5–2 мм) без яиц в выводковой камере. Во время проведения опыта дафний не кормили.

Инсектициды. Для инфицирования беспозвоночных применяли культуру *Metarhizium robertsii* P-72 из коллекции микроорганизмов Института систематики и экологии животных СО РАН. Конидии гриба выращивали на автоклавированном пшенице (Круиков et al., 2009) и перед обработкой суспендировали в дистиллированной воде. При проведении токсикологических тестов дафний рассаживали в прозрачные пластиковые контейнеры объемом 250 мл, в которые вносили по 100 мл фильтрованной озёрной воды. Инфицирование осуществляли путём внесения определенного объема суспензии в емкости с дафниями. В качестве химического инсектицида применяли препарат «Сэмпай» (ЗАО «Август», г. Москва). Препарат представляет собой концентрат эмульсии, содержащий 50 г/л действующего вещества эсфенвалерат ((S)- α -циано-3-феноксипензил (S)-2-(4-хлорфенил)-3-метилбутират). Препарат разводили в дистиллированной воде и вносили в определенных дозах в емкости с дафниями. В контроле использовали озёрную фильтрованную воду без добавлений токсикантов.

Были проведены серии острых токсических тестов для определения летальных и сублетальных концентраций токсикантов при их раздельном и совместном поступлении. В качестве показателей физиологического состояния беспозвоночных измеряли активность ферментов детоксицирующей системы (глутатион-S-трансферазы, неспецифические эстеразы) и концентрации гормона стресса (дофамина).

Подготовка образцов для биохимического анализа. Для измерения активности глутатион-S-трансферазы (ГСТ) и неспецифических эстераз дафний гомогенизировали в 30 мкл фосфатного буфера. Гомогенат инкубировали в термошейкере Biosan TS 100 в течение 20 минут при 28 °C и 645 rpm, затем центрифугировали при 4 °C и 10000 g в течение 10 минут.

Образцы для измерения дофамина (ДА) готовили путем гомогенизации целого тела дафний в 30 мкл хлорной кислоты, инкубировали в течение 10 минут на термошейкере Biosan TS 100 при 28 °C и 600 rpm, выдерживали 20 минут при комнатной температуре, центрифугировали при 4 °C и 10000 g в течение 10 минут, перемещали в чистые пробирки и центрифугировали ещё раз в течение 5 минут. Перед загрузкой в прибор образцы фильтровали.

Измерение активности ферментов и определение концентрации дофамина. Активность ферментов детоксицирующей системы измеряли через 12 и 24 часа после внесения токсикантов, концентрацию ДА – через 24 часа. Измерение активности неспецифических эстераз проводили по методу С. К. Прабхакаран и С. Т. Кэмбл (Prabhakaran, Kamble, 1995) с изменениями. К 3 мкл образца добавляли 200 мкл р-нитрофенилацетата, инкубировали 5 мин при 28 °C. Активность фермента определяли по образованию нитрофенила спектрофотометрически при длине волны 410 нм. Измерение

активности ГСТ проводили по методу В. Хабига с соавторами (Habig et al., 1974) с изменениями. К 5 мкл образца добавляли 200 мкл 1 мМ глутатиона и 5 мкл 1 мМ ДНХБ, инкубировали при 28 °С в течение 20 мин. Активность фермента определяли спектрофотометрически по образованию 5-(2,4-динитрофенил)-глутатиона, при длине волны 340 нм. Активность ферментов выражали в единицах изменения оптической плотности (ДА) инкубационной смеси в ходе реакции в расчете на 1 мин и 1 мг белка. Концентрацию белка в образцах определяли по методу М. Бредфорда (Bradford, 1976). Для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин.

Концентрацию ДА измеряли методом внешнего стандарта на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1260 Infinity с электрохимическим детектором Esa Coulochem III (модель ячейки 5010А, потенциал 300 mV) по методу Груntenко с соавторами (Gruntenko et al., 2005) с модификациями. В качестве стандарта использовали Dopamine hydrochloride (Sigma-Aldrich). Разделение проводили на колонке ZorbaxSB-C18 (4,6×250 мм, частицы 5 мкм) в изократическом режиме.

Измерение активности ферментов проводили на 20 образцах из каждого варианта, дофаминов – на 10 образцах. Для приготовления одного образца использовали одну особь.

Статистическая обработка данных. Данные по выживаемости беспозвоночных были проанализированы с помощью метода Каплан-Мейера, используя программу Sigma Stat 3. Различия между синергетическим и аддитивным эффектами определялись на основе сопоставления ожидаемой и наблюдаемой смертности насекомых, с использованием χ^2 критерия (Тоупои et al., 2008). Аддитивный эффект регистрировали при $\chi^2 < 3.84$, синергетический – при $\chi^2 > 3.84$ в том случае, если наблюдаемая смертность была выше ожидаемой, антагонистический – при $\chi^2 > 3.84$, в случае если наблюдаемая смертность была ниже ожидаемой. Активность ферментов и дофамина представлена в виде средних значений и стандартных отклонений. Нормальность распределения данных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Анализ данных проводили с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA) с последующим Тьюки тестом (Tukey test) используя программу STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение.

Внесение энтомопатогенного гриба *M. robertsii* в концентрации 1×10^5 конидий/мл приводило к гибели 10% особей на четвертые сутки эксперимента (рис. 1). В серии с внесением эсфенвалерата в концентрации 0,1 мкг/л смертность дафний на четвертые сутки эксперимента не превышала 20%. Совместное воздействие аналогичных концентраций эсфенвалерата и *M. robertsii* на дафний приводило к синергетическому эффекту в первые 72 часа после обработки ($\chi^2 > 8,5$; $p < 0,05$) – отмечалась повышенная смертность организмов в сравнении с раздельным внесением препаратов, и составила 42%.

Проведенные биохимические исследования выявили изменения показателей детоксицирующей системы дафний и концентрации ДА при воздействии сублетальных концентраций эсфенвалерата и *M. robertsii*. Результаты изучения воздействия эсфенвалерата и *M. robertsii* на ДА *D. magna* показали существенные изменения концентрации данного гормона (рис. 2). Внесение *M. robertsii* вызывало увеличение уровня ДА (two-way ANOVA, $p < 0,01$) через 24 часа независимо от присутствия инсектицида, то есть увеличение концентрации ДА при совместном воздействии инсектицидов происходило за счёт гриба.

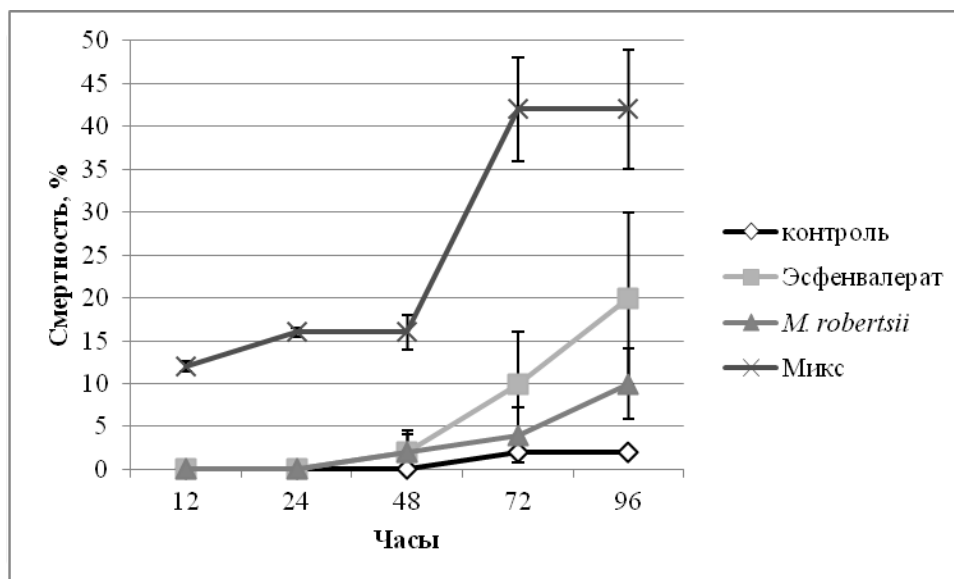


Рис. 1. Смертность *D. magna* при раздельном и совместном внесении эсфенвалерата (0,1 мкг/л) и энтомопатогенного гриба *M. robertsii* (1×10^5 конидий/мл).

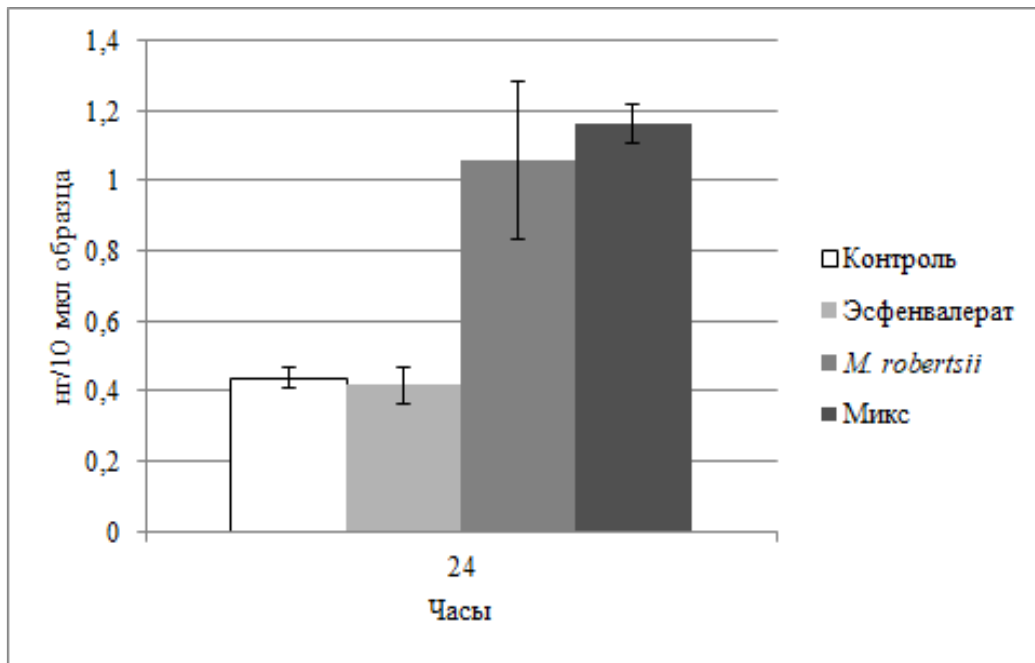


Рис. 2. Концентрация дофамина в образцах гомогената целого тела *D. magna* при внесении эсфенвалерата (0,1 мкг/л) и *M. robertsii* (1×10^5 конидий/мл).

Через 12 часов после обработки комбинация эсфенвалерата и *M. robertsii* приводила к достоверному увеличению (Tukey HSD, $p < 0,01$) активности глутатион-S-трансферазы (ГСТ) в сравнении с контролем (рис. 3). Примечательно, что воздействие эсфенвалерата отдельно от гриба приводило к снижению активности ГСТ (Tukey HSD, $p < 0,001$), а внесение гриба отдельно от эсфенвалерата носило выраженную тенденцию к увеличению ГСТ, однако не достоверно значимую (Tukey HSD, $p = 0,08$). Через 24 часа после обработки отмечалась повышенная активность ГСТ в варианте с *M. robertsii* (Tukey HSD, $p < 0,05$), тогда как обработка эсфенвалератом приводила к снижению уровня фермента (two-way ANOVA, $p = 0,087$).

Через 12 и 24 часа после обработки мы регистрировали существенное (Tukey HSD, $p < 0,01$) снижение активности неспецифических эстераз в варианте с одновременным внесением инсектицидов (Tukey HSD, $p < 0,01$). Через 12 часов активность эстераз в миксе снижалась преимущественно за счет действия гриба (two-way ANOVA, фактор гриб, $p < 0,05$), а через 24 часа – за счет действия эсфенвалерата (two-way ANOVA, фактор эсфенвалерат, $p < 0,05$).

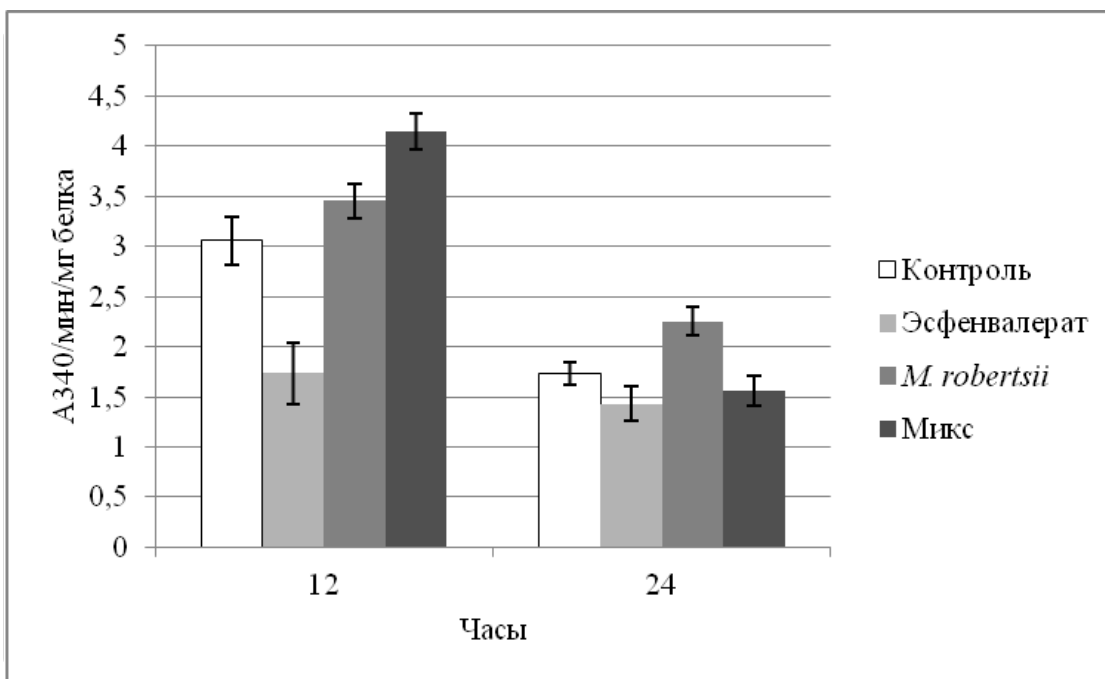


Рис. 3. Активность глутатион-S-трансферазы в образцах гомогената целого тела *D. magna* при воздействии эсфенвалерата (0,1 мкг/л) и *M. robertsii* (1×10^5 конидий/мл).

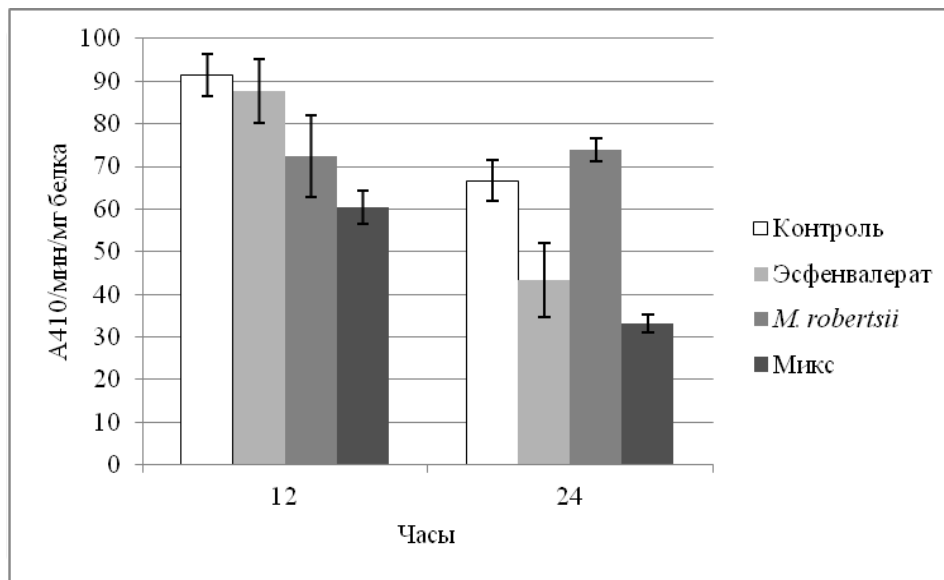


Рис. 4. Активность неспецифических эстераз в образцах гомогената целого тела *D. magna* при воздействии эсфенвалерата (0,1 мкг/л) и *M. robertsii* (1×10^5 конидий/мл).

В нашем исследовании показано, что совместное воздействие сублетальных доз пиретроидного инсектицида (на основе действующего вещества эсфенвалерата) и конидий энтомопатогенного гриба *M. robertsii* приводит к синергетическому эффекту в смертности дафний. Полученные данные свидетельствуют о том, что сублетальные концентрации химического инсектицида эсфенвалерата могут подавлять активность ферментов детоксицирующей системы. В то же время, при микозах отмечается тенденция к подъему уровня данных ферментов у дафний, что согласуется с работами по грибным инфекциям у ряда наземных насекомых, а именно: саранчовых, чешуекрылых и жесткокрылых (Serebrov et al., 2006; Dubovskiy et al., 2012; Tomilova et al., 2016; Jia et al., 2016; Yaroslavtseva et al., 2017; Kryukov et al., 2017). При комбинированном действии гриба и эсфенвалерата мы наблюдали (по крайней мере через 24 часа после обработки) «сдерживание» активации детоксицирующих ферментов под действием инсектицида, а в ряде случаев комбинированная обработка приводила к падению активности ферментов ниже контрольного уровня. Таким образом, супрессия детоксицирующей системы может быть одной из причин синергизма между грибами *Metarhizium* и эсфенвалератом. Подобные эффекты по изменению активности ферментов детоксицирующей системы показаны на других членистоногих при их обработке природными или синтетическими инсектицидами (имдаклоприд, *Bacillus thuringiensis*), а также энтомопатогенными грибами (Serebrov, 2003; Yaroslavtseva et al., 2017).

Мы регистрировали подъем уровня ДА у дафний при обработке грибом, что согласуется с аналогичными тенденциями при развитии микозов у наземных насекомых (Черткова и др., 2016). Кроме того, ранее нами был показан подъем уровня ДА у дафний через 12 часов после обработки сублетальными дозами эсфенвалерата (Носков, неопубликованные данные). Подъем уровня ДА отмечался не только при микозах, но и при бактериозах насекомых (Chertkova et al., 2016). То есть повышение данного гормона, по-видимому, является универсальной реакцией на стресс, вызванный патогенами и инсектицидами, как у водных, так и наземных беспозвоночных.

Таким образом, даже сублетальные концентрации токсикантов могут оказывать иммуномодулирующее и стрессирующее воздействие на организм водных беспозвоночных, повышая при этом их смертность от неспецифических энтомопатогенных микроорганизмов – грибов р. *Metarhizium*.

References

- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Chertkova, E. A., Dubovskiy, I. M., Yaroslavtseva, O. N., Grizanov, E. V., Kryukov, V. Yu., & Glupov, V. V. (2016). Изменение уровня дофамина в гемolimфе личинок капустной совки *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae) и колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) при различных патогенезах. *Евразийский энтомологический журнал*, 15(1), 60-67. (In Russian).
- Daam, M. A., Van den Brink, P. J., & Nogueira, A. J. (2008). Impact of single and repeated applications of the insecticide chlorpyrifos on tropical freshwater plankton communities. *Ecotoxicology*, 17(8), 756-771. DOI: 10.1007/s10646-008-0227-8.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440.
- Dubovskiy, I. M., Kryukov, V. Y., Benkovskaya, G. V., Yaroslavtseva, O. N., Surina, E. V., & Glupov, V. V. (2010). Activity of the detoxificative enzyme system and encapsulation rate in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say) larvae under organophosphorus insecticide treatment and entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) infection. *Euroasian Entomol. J.*, 9, 577-582.

- Dubovskiy, I. M., Slyamova, N. D., Kryukov, V. Y., Yaroslavtseva, O. N., Levchenko, M. V., Belgibaeva, A. B., & Glupov, V. V. (2012). The activity of nonspecific esterases and glutathione-S-transferase in *Locusta migratoria* larvae infected with the fungus *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota, Hypocreales). *Entomological review*, 92(1), 27-31. DOI: 10.1134/S0013873812010022.
- Dubovskiy, I. M., Yaroslavtseva, O. N., Kryukov, V. Y., Benkovskaya, G. V., & Glupov, V. V. (2013). An increase in the immune system activity of the wax moth *Galleria mellonella* and of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* under effect of organophosphorus insecticide. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 49(6), 592. DOI: 10.1134/S0022093013060066.
- Fisher, J. J., Castrillo, L. A., Donzelli, B., & Hajek, A. E. (2016). Starvation and imidacloprid exposure influence immune response by *A. glabripennis* to *M. brunneum*. *Ecoimmunology of the Asian Longhorned Beetle, Anoplophora glabripennis*, 111. DOI: [10.1093/jee/tox124](https://doi.org/10.1093/jee/tox124).
- Furlong, M. J., & Groden, E. (2001). Evaluation of synergistic interactions between the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) pathogen *Beauveria bassiana* and the insecticides, imidacloprid, and cyromazine. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 344-356. DOI: [10.1603/0022-0493-94.2.344](https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.2.344)
- Gruntenko, N. E., Karpova, E. K., Adonyeva, N. V., Chentsova, N. A., Faddeeva, N. V., Alekseev, A. A., & Rauschenbach, I. Y. (2005). Juvenile hormone, 20-hydroxyecdysone and dopamine interaction in *Drosophila virilis* reproduction under normal and nutritional stress conditions. *Journal of insect physiology*, 51(4), 417-425. DOI: [10.1016/j.jinsphys.2005.01.007](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.01.007).
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- James, R. R., & Xu, J. (2012). Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. *Journal of invertebrate pathology*, 109(2), 175-182. DOI: [10.1016/j.jip.2011.12.005](https://doi.org/10.1016/j.jip.2011.12.005).
- Jia, M., Cao, G., Li, Y., Tu, X., Wang, G., Nong, X., ... & Zhang, Z. (2016). Biochemical basis of synergism between pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and insecticide chlorantraniliprole in *Locusta migratoria* (Meyen). *Scientific reports*, 6. DOI: [10.1038/srep28424](https://doi.org/10.1038/srep28424).
- Kryukov, V. Y., Khodyrev, V. P., Yaroslavtseva, O. N., Kamenova, A. S., Duisembekov, B. A., & Glupov, V. V. (2009). Synergistic action of entomopathogenic hyphomycetes and the bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* in the infection of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Applied biochemistry and microbiology*, 45(5), 511-516. DOI: 10.1134/S000368380905010X.
- Kryukov, V. Y., Tomilova, O. G., Luzina, O. A., Yaroslavtseva, O. N., Akhanaev, Y. B., Tyurin, M. V., ... & Glupov, V. V. (2017). Effects of fluorine-containing usnic acid and fungus *Beauveria bassiana* on the survival and immune-physiological reactions of Colorado potato beetle larvae. *Pest management science*. DOI: 10.1002/ps.4741.
- Kurbatova, S. A., Koreneva, E. A., & Vinogradov, G. A. (2007). Reaktsiya zooplanktona mikrokosmov na razdelnoe i sovmestnoe postuplenie hlорpirifosa i smesi tyazhelyih metallov. *Biologiya vnutrennih vod*, (3), 87-94. (In Russian).
- Noskov, Yu. A., Boyarischeva, E. A., Belevich, O. E., & Yurchenko, Yu. A. (2010). Raspredelenie chuvstvitelnosti vidov k esfenvaleratu v soobshchestvah chlenistonogih presnyih vodoyomov yuga Zapadnoy Sibiri. *Evraziatskiy entomologicheskiy zhurnal*, 9(4), 583-589. (In Russian).
- Pereira, J. L., Antunes, S. C., Castro, B. B., Marques, C. R., Gonçalves, A. M., Gonçalves, F., & Pereira, R. (2009). Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18(4), 455-463. DOI: 10.1007/s10646-009-0300-y.
- Prabhakaran, S. K., & German, S. T. (1995). Purification and characterization of an esterase isozyme from insecticide resistant and susceptible strains of German cockroach, *Blattella germanica* (L.). *Insect biochemistry and molecular biology*, 25(4), 519-524.
- Pridgeon, J. W., Becnel, J. J., Clark, G. G., & Linthicum, K. J. (2009). A high-throughput screening method to identify potential pesticides for mosquito control. *Journal of medical entomology*, 46(2), 335-341. DOI: [10.1603/033.046.0219](https://doi.org/10.1603/033.046.0219).
- Russell, C. W., Ugine, T. A., & Hajek, A. E. (2010). Interactions between imidacloprid and *Metarhizium brunneum* on adult Asian longhorned beetles (*Anoplophora glabripennis* (Motschulsky)) (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of invertebrate pathology*, 105(3), 305-311. DOI: [10.1016/j.jip.2010.08.009](https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.08.009).
- Sanchez-Bayo, F. P. (2012). Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*. DOI:10.4172/2161-0525.S4-002.
- Serebrov, V. V., Gerber, O. N., Malyarchuk, A. A., Martemyanov, V. V., Alekseev, A. A., & Glupov, V. V. (2006). Effect of entomopathogenic fungi on detoxification enzyme activity in greater wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) and role of detoxification enzymes in development of insect resistance to entomopathogenic fungi. *Biology Bulletin*, 33(6), 581-586. DOI: 10.1134/S1062359006060082.
- Serebrov, V. V., Kiselev, A. A., & Glupov, V. V. (2003). Izuchenie nekotoryih faktorov sinergizma mezhdru entomopatogennyimi gribami i himicheskimi insektitsidami. *Mikologiya i fitopatologiya*, 1(37), 76-82. (In Russian).
- Stapel, J. O., Cortesero, A. M., & Lewis, W. J. (2000). Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biological Control*, 17(3), 243-249. DOI: [10.1006/bcon.1999.0795](https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0795).
- Tomilova, O. G., Kryukov, V. Y., Duisembekov, B. A., Yaroslavtseva, O. N., Tyurin, M. V., Kryukova, N. A., Glupov, V. V. (2016). Immune-physiological aspects of synergy between avermectins and the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* in Colorado potato beetle larvae. *Journal of invertebrate pathology*, 140, 8-15. DOI: [10.1016/j.jip.2016.08.008](https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.008).
- Van Wijngaarden, R., Brock, T., & Douglas, M. T. (2005). Effects of chlorpyrifos in freshwater model ecosystems: the influence of experimental conditions on ecotoxicological thresholds. *Pest management science*, 61(10), 923-935. DOI: 10.1002/ps.1084.

Citation:

Noskov, Yu.A., Chertkova, E.A., Polenogova, O.V., Yaroslavtseva, O.N. (2017). Synergistic effect of pyrethroid insecticide and entomopathogenic fungus on *Daphnia magna* Straus. *Ukrainian Journal of Ecology*, 7(4), 393-398.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0. License