



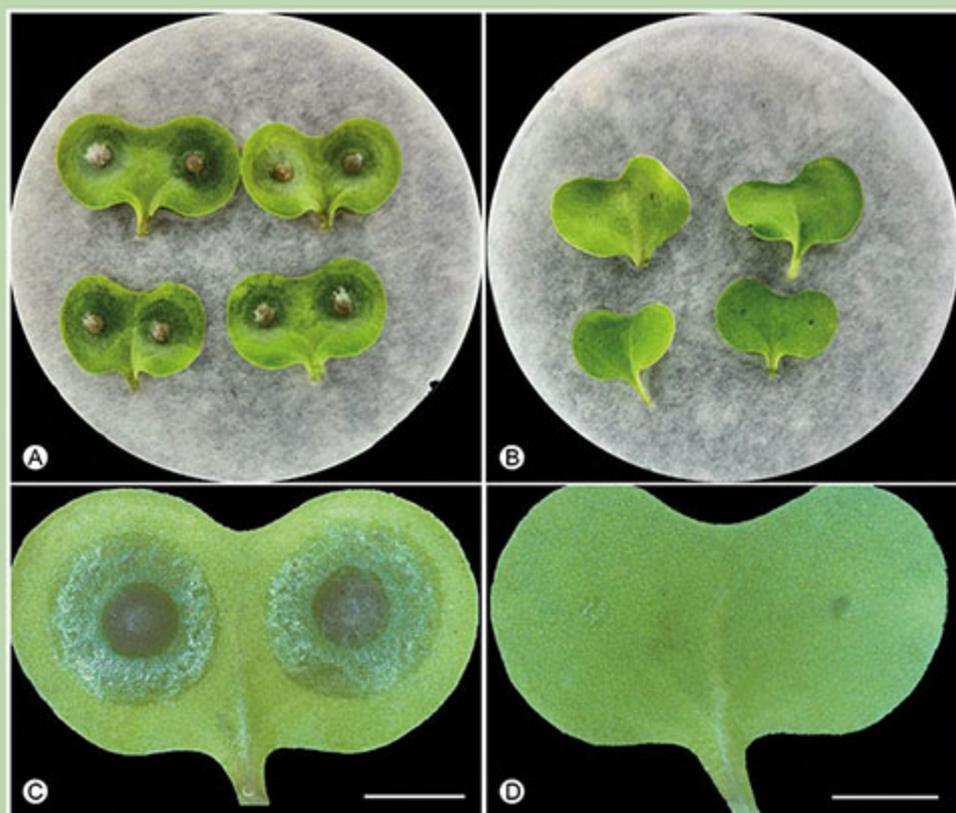
ISSN 1727-1320 (Print),  
ISSN 2308-6459 (Online)

# ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

---

## PLANT PROTECTION NEWS

2022 TOM VOLUME 105 ВЫПУСК ISSUE 3



Санкт-Петербург  
St. Petersburg, Russia

## РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ИНСЕКТИЦИДАМ КОМНАТНОЙ МУХИ *MUSCA DOMESTICA* В ЦЕНТРЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Т.А. Давлианидзе, О.Ю. Еремина\*, В.В. Олифер

Институт дезинфектологии «ФНЦГ им. Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, Московская обл., г. Мытищи

\* ответственный за переписку, e-mail: [eremina\\_insect@mail.ru](mailto:eremina_insect@mail.ru)

В лабораторных условиях проведена оценка устойчивости к инсектицидам из различных химических классов нескольких культур комнатной мухи *Musca domestica*, полученных из популяций, собранных на объектах в Московской и Калужской областях (КСК-1 — в коровнике и КСК-2 — в конюшне конно-спортивного клуба, Красногорск — на пищевом объекте, Калуга — в компосте садового некоммерческого товарищества). Установлено, что при топикальном нанесении комнатные мухи всех изученных культур обладали наибольшей устойчивостью к циперметрину (ПР=75–900х) и к соединениям класса неоникотиноидов тиаметоксаму и клотианидину (ПР=95–330х). Установлена высокая резистентность к фипронилу у двух культур мух (ПР=46–75х). К хлорпирифосу культура КСК-1 оказалась слабо толерантной (ПР=3.7х), а остальные культуры – чувствительными. К индоксакарбу и хлорфенапиру все изученные культуры комнатной мухи оказались более чувствительными, чем лабораторная культура S-НИИД. Накопленные нами данные свидетельствуют о мультирезистентности комнатной мухи практически ко всем традиционно применяемым инсектицидам. Обсуждаются возможные механизмы резистентности насекомых к инсектицидам. Частота использования инсектицидов тех или иных химических классов приводит к резистентности целевого объекта. Широкое применение пиретроидов в животноводстве привело к высокой устойчивости к ним комнатной мухи – места вылода личинок постоянно загрязняются этими инсектицидами. Высокая устойчивость к неоникотиноидам обусловлена частым применением их в виде отравленных приманок на объектах животноводства. К новым для нашей страны представителям классов оксадиазинов и пирролов исследованные культуры комнатной мухи чувствительны.

**Ключевые слова:** пиретроиды, неоникотиноиды, фосфорорганические соединения, фенилпиразолы, оксадиазины, пирролы

Поступила в редакцию: 26.05.2022

Принята к печати: 03.09.2022

### Введение

Комнатная муха *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) имеет большое медицинское, ветеринарное и санитарно-эпидемиологическое значение как насекомое, которое механически переносит более 100 видов патогенов человека, домашней птицы и скота (Davies et al., 2016; Khamesipour et al., 2018; Wang et al., 2019). Комнатная муха выступает в качестве одного из наиболее важных переносчиков возбудителей болезней человека во всем мире (Zhang et al., 2018). Ежегодные экономические потери от этого насекомого в США оцениваются в 375 млн. долларов (Biale et al., 2017). Препятствием для эффективной борьбы служит формирование резистентных популяций комнатной мухи к инсектицидам из различных классов химических соединений. Имеются сведения об устойчивости комнатной мухи к 58 инсектицидам, что позволило этому виду занять 4 место в списке 12 видов насекомых, имеющих резистентность к наибольшему количеству различных химических соединений. Устойчивость к инсектицидам в популяции комнатной мухи представляет собой основную проблему, с которой сталкиваются многие медицинские и ветеринарные организации во всем мире. В настоящее время выявлено более

330 случаев устойчивости комнатной мухи к инсектицидам всех используемых классов химических соединений (Sparks, Nauen, 2015).

Показатели резистентности (ПР) комнатной мухи за рубежом высоки. Так к пиретроидам встречаются популяции, имеющие ПР > 500х, к хлорорганическим соединениям (ХОС) – ПР > 900х, к фосфорорганическим соединениям (ФОС) ПР > 7000х, к карбаматам ПР > 1300х, к регуляторам развития насекомых ПР > 60х и т. д. При селекции в лабораторных условиях достигнуты и более высокие значения устойчивости (цит. по Давлианидзе, Еремина, 2021). В России в период 1990–2020 гг. установлены высокие уровни резистентности комнатной мухи к ХОС (ПР > 30х), ФОС (ПР=100–500х), пиретроидам (ПР > 400х), неоникотиноидам (ПР=57х), авермектинам (ПР=10х) (цит. по Давлианидзе, Еремина, 2021; Левченко, 2019; Левченко, 2020).

Целью нашей работы является исследование уровней резистентности комнатной мухи к широко применяемым инсектицидам из химических классов пиретроидов, фенилпиразолов, ФОС и неоникотиноидов и новым для нашей страны инсектицидам из классов пирролов и оксадиазинов.

### Материалы и методы

При выполнении исследования использована комнатная муха *M. domestica* лабораторной чувствительной культуры S-НИИД и выборки, собранные на объектах в Московской и Калужской областях. Выборки из популяций комнатной

мухи КСК-1 собраны в коровнике и КСК-2 в конюшне конно-спортивного клуба (Московская область, Можайский городской округ, 55.387459 с.ш. 35.986661 в.д., сбор 14–17.07.2020). Выборка Красногорск собрана на пищевом

объекте (Московская область, городской округ Красногорск, 55.896277 с.ш. 37.297835 в.д., сбор 09.06.2020). Выборка Калуга собрана в компосте садового некоммерческого товарищества (Калужская обл., 54.586849942399496 с.ш. 36.23018088787358 в.д., сбор 05–06.09.2020). На указанных объектах проводились дезинсекционные мероприятия, однако нам не удалось получить документальное подтверждение о примененных инсектицидах.

Отловленные родительские выборки из указанных популяций комнатной мухи введены в лабораторную культуру в 2020 г. В дальнейшем эти искусственные лабораторные культуры содержали в инсектарии института в отсутствие пресса инсектицидов. В экспериментах использовали 3–5 суточных имаго мух поколения F3–F5, средней массой 16–19 мг/особь, без разделения по полу.

Инсектициды: технические продукты (ТП) циперметрина, фипронила, хлорпирифоса, тиаметоксама и клотианидина, индоксакарба (рацемическая смесь 75% активного S-энантиомера и 25% неактивного R-энантиомера) и хлорфенапира (95–97%) – синтез Китая.

Инсектицидность ТП определяли топикальным методом, нанося ацетоновые растворы ДВ инсектицидов в 5–7

логарифмически снижающихся концентрациях по 1 мкл на среднеспинку анестезированных мух. Учет поражения и гибели насекомых проводили через 24, 48 и 72 ч после начала эксперимента и определяли показатели  $СК_{50}$  и  $СК_{95}$ , (%) — концентрации, при которых погибает 50% и 95% насекомых, соответственно. Показатель резистентности (ПР) рассчитывали как отношение  $СК_{50}$  для резистентной культуры к  $СК_{50}$  для чувствительной культуры. Уровни резистентности характеризовали, используя следующую шкалу: ПР:  $\leq 1$  — насекомые высокочувствительны к инсектициду; 1–2 — чувствительны; 3–10х — толерантны; от 11х до 30х — средне резистентны; от 31х до 100х — высоко резистентны;  $> 100х$  — экстремально высоко резистентны (Методы лабораторных исследований и испытаний..., 2020). Повторность опытов трехкратная. Эксперименты проводили при температуре 22–25 °С. Результаты экспериментов обрабатывали статистически с использованием компьютерного приложения Microsoft Office Excel 2007. Математическая обработка данных и вычисление эффективных концентраций при доверительном интервале 95% проведена методом пробит-анализа по методу Финни (Finney, 1971).

### Результаты

К широко применяемым инсектицидам, таким как пиретроиды, комнатная муха исследуемых культур высоко резистентна. Наименьшей устойчивостью к циперметрину характеризовалась культура КСК-1 — ПР составил 75х, остальные культуры были экстремально высоко устойчивы (ПР=500–900х). К фенилпиразолу фипронилу высоко устойчивыми оказались культуры Калуга и Красногорск (ПР 46–75х), тогда как культуры КСК-1 и КСК-2 сохраняли толерантность (ПР 5–8х). К хлорпирифосу (ФОС) изученные культуры оказались чувствительными или слаботорантными (КСК-1 ПР=3.7х) (табл. 1).

К веществам класса неоникотиноидов комнатная муха оказалась высоко резистентной. Так, к тиаметоксаму

устойчивость разных культур составила от 100х до  $> 333х$ . Уровень резистентности подобного рода характеризуется как очень высокий и экстремально высокий. Клотанидин является активным метаболитом тиаметоксама и к нему все культуры демонстрировали также экстремально высокую резистентность (табл. 2).

В нашей стране новые для медицинской дезинсекции классы инсектицидов включают оксадиазины (индоксакарб) и пирролы (хлорфенапир). Весьма интересно, что к индоксакарбу и хлорфенапиру все изученные культуры комнатной мухи оказались более чувствительными, чем лабораторная чувствительная культура S-НИИД (табл. 3).

**Таблица 1.** Резистентность комнатной мухи к пиретроидам, фенилпиразолам и ФОС (N=300, учет через 48 ч)

Культура	$СК_{50}$ , %	$СК_{95}$ , %	$\chi^2(df)$	ПР по $СК_{50}$
<b>Циперметрин</b>				
S-НИИД	0.00020 (0.00015–0.00026)	0.0012 (0.0009–0.0016)	2.7 (5)	-
КСК-1	0.015 (0.011–0.020)	0.10 (0.08–0.13)	3.1 (5)	75
КСК-2	0.120 (0.092–0.156)	$>1.0$	3.6 (5)	600
Красногорск	0.100 (0.071–0.140)	$>1.0$	2.8 (5)	500
Калуга	0.180 (0.138–0.248)	$>1.0$	3.9 (5)	900
<b>Фипронил</b>				
S-НИИД	0.00012 (0.00008–0.00018)	0.0076 (0.0052–0.0114)	6.8 (5)	-
КСК-1	0.0006 (0.0004–0.0009)	0.009 (0.006–0.014)	7.5 (5)	5.0
КСК-2	0.0010 (0.0008–0.0012)	0.026 (0.021–0.033)	4.6 (5)	8.3
Красногорск	0.0090 (0.0064–0.0126)	0.100 (0.071–0.140)	12.6 (7)	75
Калуга	0.0055 (0.0042–0.0069)	0.066 (0.050–0.086)	5.6 (5)	46
<b>Хлорпирифос</b>				
S-НИИД	0.015 (0.010–0.023)	0.040 (0.027–0.060)	5.1 (5)	-
КСК-1	0.055 (0.040–0.075)	0.100 (0.073–0.137)	4.8 (5)	3.7
КСК-2	0.010 (0.008–0.013)	0.550 (0.440–0.688)	5.5 (5)	0.7
Красногорск	0.021 (0.016–0.028)	0.100 (0.076–0.131)	4.3 (5)	1.4
Калуга	0.009 (0.006–0.013)	0.600 (0.400–0.900)	7.1 (5)	0.6

Примечание: доверительные интервалы при вероятности 95%.

**Table 1.** Resistance of the house fly to pyrethroids, phenylpyrazoles, and OPs (N=300, counted after 48 hours)

Strain	LC <sub>50</sub> (95% CL) %	(LC <sub>95</sub> , (95% CL) %)	$\chi^2(df)$	RF <sub>50</sub>
<b>Суперметрин</b>				
S-NIID	0.00020 (0.00015–0.00026)	0.0012 (0.0009–0.0016)	2.7 (5)	-
KSK-1	0.015 (0.011–0.020)	0.10 (0.08–0.13)	3.1 (5)	75
KSK-2	0.120 (0.092–0.156)	>1.0	3.6 (5)	600
Krasnogorsk	0.100 (0.071–0.140)	>1.0	2.8 (5)	500
Kaluga	0.180 (0.138–0.248)	>1.0	3.9 (5)	900
<b>Фипронил</b>				
S-NIID	0.00012 (0.00008–0.00018)	0.0076 (0.0052–0.0114)	6.8 (5)	-
KSK-1	0.0006 (0.0004–0.0009)	0.009 (0.006–0.014)	7.5 (5)	5.0
KSK-2	0.0010 (0.0008–0.0012)	0.026 (0.021–0.033)	4.6 (5)	8.3
Krasnogorsk	0.0090 (0.0064–0.0126)	0.100 (0.071–0.140)	12.6 (7)	75
Kaluga	0.0055 (0.0042–0.0069)	0.066 (0.050–0.086)	5.6 (5)	46
<b>Хлорпирифос</b>				
S-NIID	0.015 (0.010–0.023)	0.040 (0.027–0.060)	5.1 (5)	-
KSK-1	0.055 (0.040–0.075)	0.100 (0.073–0.137)	4.8 (5)	3.7
KSK-2	0.010 (0.008–0.013)	0.550 (0.440–0.688)	5.5 (5)	0.7
Krasnogorsk	0.021 (0.016–0.028)	0.100 (0.076–0.131)	4.3 (5)	1.4
Kaluga	0.009 (0.006–0.013)	0.600 (0.400–0.900)	7.1 (5)	0.6

Note: 95% confidence limits of the mean value.

**Таблица 2.** Резистентность комнатной мухи к неоникотиноидам (N=300, учет через 48 ч)

Культура	СК <sub>50</sub> , %	СК <sub>95</sub> , %	$\chi^2(df)$	ПП по СК <sub>50</sub>
<b>Тиаметоксам</b>				
S-НИИД	0.0030 (0.0022–0.0041)	0.021 (0.015–0.029)	2.8 (5)	-
КСК-1	>1.0	>1.0	27.8 (6)	>333
КСК-2	0.60 (0.43–0.81)	>1.0	13.1 (6)	200
Красногорск	1.0 (0.62–1.61)	>1.0	12.4 (6)	333
Калуга	0.30 (0.19–0.47)	1.0 (0.77–1.30)	1.1 (6)	100
<b>Клотинанидин</b>				
S-НИИД	0.004 (0.003–0.005)	0.023 (0.018–0.030)	2.5 (6)	-
КСК-1	>1.0	>1.0	23.9 (6)	>250
КСК-2	0.38 (0.29–0.72)	>1.0	4.1 (6)	95
Красногорск	1.0 (0.77–1.31)	>1.0	9.4 (6)	263
Калуга	0.42 (0.32–0.54)	>1.0	4.1 (6)	105

Примечание: доверительные интервалы при вероятности 95%.

**Table 2.** Resistance of the house fly to neonicotinoids (N=300, counted after 48 hours)

Strain	LC <sub>50</sub> (95% CL) %	(LC <sub>95</sub> , (95% CL) %)	$\chi^2(df)$	RF <sub>50</sub>
<b>Thiamethoxam</b>				
S-NIID	0.0030 (0.0022–0.0041)	0.021 (0.015–0.029)	2.8 (5)	-
KSK-1	>1.0	>1.0	27.8 (6)	>333
KSK-2	0.60 (0.43–0.81)	>1.0	13.1 (6)	200
Krasnogorsk	1.0 (0.62–1.61)	>1.0	12.4 (6)	333
Kaluga	0.30 (0.19–0.47)	1.0 (0.77–1.30)	1.1 (6)	100
<b>Clothianidin</b>				
S-NIID	0.004 (0.003–0.005)	0.023 (0.018–0.030)	2.5 (6)	-
KSK-1	>1.0	>1.0	23.9 (6)	>250
KSK-2	0.38 (0.29–0.72)	>1.0	4.1 (6)	95
Krasnogorsk	1.0 (0.77–1.31)	>1.0	9.4 (6)	263
Kaluga	0.42 (0.32–0.54)	>1.0	4.1 (6)	105

Note: 95% confidence limits of the mean value.

**Таблица 3.** Резистентность комнатной мухи к оксадиазидам и пирролам (N=300, учет через 72 ч)

Культура	СК <sub>50</sub> , %	СК <sub>95</sub> , %	$\chi^2(df)$	ПР по СК <sub>50</sub>
<b>Индоксакарб</b>				
S-НИИД	0.0041 (0.0036–0.0047)	0.014 (0.012–0.016)	7.8 (4)	
KCK-1	0.0018 (0.0013–0.0025)	0.026 (0.019–0.036)	1.7 (5)	0.44
KCK-2	0.0015 (0.0012–0.0019)	0.140 (0.112–0.175)	7.4 (5)	0.37
Красногорск	0.0060 (0.0040–0.0090)	0.067 (0.045–0.092)	8.0 (4)	1.46
Калуга	0.0010 (0.0007–0.0015)	0.022 (0.016–0.031)	3.9 (5)	0.24
<b>Хлорфенапир</b>				
S-НИИД	0.0040 (0.0035–0.0046)	0.020 (0.014–0.023)	35.1 (6)	-
KCK-1	0.0030 (0.0022–0.0045)	0.026 (0.017–0.039)	33.9 (5)	0.75
KCK-2	0.0050 (0.0038–0.0065)	0.012 (0.009–0.016)	7.6 (4)	1.25
Красногорск	0.0010 (0.0008–0.0013)	0.015 (0.012–0.019)	1.98 (5)	0.25
Калуга	0.0013 (0.0009–0.0018)	0.027 (0.019–0.038)	10.5 (5)	0.33

Примечание: доверительные интервалы при вероятности 95 %.

**Table 3.** Resistance of the house fly to oxadiazines and pyrroles (N=300, counting after 72 hours)

Strain	LC <sub>50</sub> (95% CL) %	(LC <sub>95</sub> , (95% CL) %)	$\chi^2(df)$	RF <sub>50</sub>
<b>Indoxacarb</b>				
S-NIID	0.0041 (0.0036–0.0047)	0.014 (0.012–0.016)	7.8 (4)	
KSK-1	0.0018 (0.0013–0.0025)	0.026 (0.019–0.036)	1.7 (5)	0.44
KSK-2	0.0015 (0.0012–0.0019)	0.140 (0.112–0.175)	7.4 (5)	0.37
Krasnogorsk	0.0060 (0.0040–0.0090)	0.067 (0.045–0.092)	8.0 (4)	1.46
Kaluga	0.0010 (0.0007–0.0015)	0.022 (0.016–0.031)	3.9 (5)	0.24
<b>Chlorfenapyr</b>				
S-NIID	0.0040 (0.0035–0.0046)	0.020 (0.014–0.023)	35.1 (6)	-
KSK-1	0.0030 (0.0022–0.0045)	0.026 (0.017–0.039)	33.9 (5)	0.75
KSK-2	0.0050 (0.0038–0.0065)	0.012 (0.009–0.016)	7.6 (4)	1.25
Krasnogorsk	0.0010 (0.0008–0.0013)	0.015 (0.012–0.019)	1.98 (5)	0.25
Kaluga	0.0013 (0.0009–0.0018)	0.027 (0.019–0.038)	10.5 (5)	0.33

Note: 95% confidence limits of the mean value.

### Обсуждение

**Пиретроиды: циперметрин.** Отловленные нами на объектах выборки популяций комнатной мухи оказались высоко (KCK-1 ПР=75х) и экстремально высоко (Калуга ПР=900х, Красногорск ПР=500х, KCK-2 ПР=600х) устойчивыми к циперметрину – широко применяемому в сельском хозяйстве и в медицинской дезинсекции пиретроиду. Препараты на основе циперметрина применяют в ветеринарии для профилактики и лечения арахноэнтомозов животных, в т.ч. крупного рогатого скота, овец, коз, свиней, для борьбы с эктопаразитами пушных зверей, собак и декоративных птиц, а также для дезинсекции животноводческих помещений ([https://galen.vetrf.ru/#/registry/pharm/registry?page=1&f\\_chemicalName](https://galen.vetrf.ru/#/registry/pharm/registry?page=1&f_chemicalName). Дата обращения 31.08.2022). Следует отметить, что высокую устойчивость комнатной мухи к пиретроидам регистрируют во многих странах мира с начала 80-х годов XX века (Рославцева, 2006). Существуют несколько мутаций натриевых каналов, которые обеспечивают устойчивость комнатной мухи к пиретроидам — *kdr*, *kdr-his* и *super-kdr*. Наличие мутации *kdr-his* обуславливает толерантность комнатной мухи в пределах ПР=10х. Наличие мутации *kdr* приводит к более высоким ПР=11–35х. И, наконец, комплекс двух мутаций *super-kdr* служит причиной более высоких уровней устойчивости к пиретроидам ПР = 37–400х (Scott, 2017). Сопоставив полученные нами ПР с приведенными выше, мы пришли к выводу о наличии у исследованных культур комнатных мух мутации *super-kdr*. К тому же, при обработке средствами в аэрозольной

упаковке, содержащими 0.1% циперметрина, обратимость паралича резистентных культур мух составила для культур: Калуга 37%, Красногорск 93%, KCK-1 87%, KCK-2 99%, в то время как мухи чувствительной лабораторной культуры S-НИИД погибали полностью (обратимость паралича 0%) (Давлианидзе, 2021).

**Фенилпирозолы: фипронил.** Две изученные нами культуры KCK-1 и KCK-2 оказались толерантными к фипронилю (ПР=5.0–8.3х). Устойчивость комнатной мухи культур Калуга и Красногорск к фипронилю оказалась высокой (ПР=46–75х) и превышала таковую, известную из литературы. Известен 10-кратный уровень в трех популяциях мух Пакистана (Khan et al., 2013) и чувствительность или слабая толерантность 11 популяций мух (ПР=0.9–2.4х) в Дании (Kristensen et al., 2004). Анализ механизмов резистентности показал, что устойчивость к фипронилю связана с микросомальными оксидазами и эстеразами (Abbas et al., 2014), а также с появлением мутантного A302S в аллеле Rdl в ГАМК-зависимых хлор-ионных каналах насекомых (Gao et al., 2007). В ветеринарии фипронил применяется в нескольких препаративных формах (спот-он, пур-он, спрей, ошейник) при борьбе с эктопаразитами мелких домашних животных (собак, кошек, декоративных грызунов и птиц) ([https://galen.vetrf.ru/#/registry/pharm/registry?page=1&f\\_chemicalName](https://galen.vetrf.ru/#/registry/pharm/registry?page=1&f_chemicalName). Дата обращения 31.08.2022). В сельском хозяйстве проводят опрыскивание растений в период вегетации против насекомых из отрядов прямокрылых и

жесткокрылых и др., а также обработку семян и клубней от почвообитающих вредителей.

Установленную нами у двух культур комнатной мухи толерантность можно отнести за счет комплексных механизмов резистентности, возникших в связи с резистентностью к пиретроидам – увеличенной детоксикации, изменения состава кутикулы и др. Так, например, на Тайване исследователи предоставили первые доказательства перекрестной устойчивости к имидаклоприду и фипронилю у устойчивых к пиретроидам культур рыжего таракана *Blattella germanica* (L.) (Blattodea: Ectobiidae) из-за сверхэкспрессии CYP4G19 (Hu, et al 2021).

У комнатной мухи культур Калуга и Красногорск, согласно принятой нами схеме, резистентность характеризуется как высокая — ПР превышает 46–75 х. Такие уровни должны сопровождаться мутациями в аллеле Rdl. Поскольку явных причин такого высокого уровня ПР не выявлено, остается предположить возможность несанкционированного применения на объектах ветеринарного надзора препаратов, разрешенных для применения против вредителей сельскохозяйственных культур. Определенно, у этих культур имеются и перечисленные выше механизмы резистентности — такие как перекрестная резистентность, увеличение активности детоксицирующих ферментов, увеличение толщины и состава кутикулы, повышение роли ABC-транспортеров. Также имеются сведения о том, что, например, в Пакистане *M. domestica*, являясь нецелевым видом, присутствующим в системе выращивания риса, имеет высокую резистентность к карбаматам (ПР к карбофурану 28–46х, картапу гидрохлориду 31–48х), пиретроидам (ПР к гамма-цигалотрину 19–43х), диамидам (ПР к хлорантранилипролу 12–27х), аналогам нереистоксина (ПР к моносультапу 14–26х) и фенилпиразолам (ПР к фипронилю 13–40х), ФОС (ПР к триазофосу 11–20х) и пиридинам (ПР к флониамиду 8–13х) (Khan, 2020).

**ФОС: хлорпирифос.** В наших экспериментах две культуры комнатной мухи оказались чувствительными к хлорпирифосу (ПР=0.6–0.7х), а две культуры – толерантными (ПР=1.4–3.7х). В Пакистане установлена толерантность комнатной мухи к хлорпирифосу (ПР=2.5–7.4х) (Khan et al., 2013), а в Италии найдены высокие показатели резистентности (ПР=42.3х) (Pezzi et al., 2011). Многие исследователи показывают, что мутация V260L АХЭ комнатной мухи придает относительно ограниченный уровень нечувствительности к инсектицидам (Kozaki et al., 2001, Walsh et al., 2001). Эта мутация обнаружена в устойчивых к ФОС культур мух YPRN и YBOL (Kozaki et al., 2001), у культуры 571ab (Kristensen et al., 2006) и у культуры SH-CBR, устойчивой к карбаматам (Liming et al. 2006). Полиморфизм АХЭ комнатной мухи установлен в Турции (Başkurt, et al., 2011). ФОС достаточно часто применяются в медицинской дезинсекции для борьбы с синантропными насекомыми и в ветеринарии для борьбы с эктопаразитами животных. Так, например, препараты на основе диазинона применяют для уничтожения эктопаразитов животных методом опрыскивания и купания в пропывной ванне, а также для обработки животноводческих помещений. Многолетнее применение хлорофоса для обработок мест выплода личинок комнатной мухи также могло отразиться на чувствительности имаго мух к ФОС.

**Неоникотиноиды: тиаметоксам и клотианидин.** Тиаметоксам относительно новый инсектицид, который

эффективно используется против комнатной мухи, однако к нему уже сформировалась устойчивость во всем мире. Результаты исследований, проведенные в Пакистане в 2015 г., продемонстрировали различный уровень устойчивости комнатной мухи к тиаметоксаму: от толерантности (ПР=7.7х) до умеренной резистентности (ПР=20х) (Khan, et al., 2015; Abbas et al., 2015). В Дании диапазон устойчивости к тиаметоксаму полевых популяций комнатной мухи был еще шире: от толерантности (ПР=6х) до высокой резистентности (ПР=76–100х) (Kristensen, Jespersen 2008; Markussen, Kristensen, 2010). К тиаметоксаму и его активному метаболиту клотианидину все изученные нами культуры проявили экстремально высокую резистентность (ПР=100–333х и 95–250х, соответственно). Столь высокая устойчивость насекомых может сопровождаться и мутациями в никотин-ацетилхолиновом рецепторе (nAChR) (Xu et al., 2022; Sial et al., 2022). Так, аминокислотная мутация (R81T) в субъединице бета1 nAChR была обнаружена в Китае у резистентных к имидаклоприду полевых популяций бахчевой тли *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Частоты аллелей R81T составили от 38.1%, до 48.2% (Zhang et al., 2015).

Близкие цифры ПР для обоих инсектицидов можно объяснить быстрым превращением тиаметоксама в клотианидин. Показано, что в теле таракана *Periplaneta americana* L. (Blattodea: Blattidae) тиаметоксам в течение 1 часа превращается в клотианидин (Benzidane et al., 2010). Данные по сравнительной инсектицидности тиаметоксама и клотианидина противоречивы. Для нимф клопа *Blissus occiduus* Barber (Hemiptera: Blissidae) контактная инсектицидность клотианидина в 20 раз выше, чем тиаметоксама. Для взрослых особей, наоборот, тиаметоксам в три раза более токсичен. При оценке системного действия на взрослых *B. occiduus* тиаметоксам оказался в пять раз более токсичным, чем клотианидин (Stamm et al., 2011). Неоникотиноиды широко применяют в медицинской дезинсекции, ветеринарии и растениеводстве. Для борьбы с мухами широко применяется препарат, содержащий 10% тиаметоксама, что и могло привести к высокой устойчивости изученных нами культур комнатной мухи.

**Оксадиазины: индоксакарб.** Комнатная муха изученных культур в целом оказалась более чувствительна к индоксакарбу, чем муха чувствительной лабораторной культуры S-НИИД и только муха культуры Красногорск – слабо толерантна (ПР=1.46х). Известно, что индоксакарб инсектициден для широкого круга насекомых, включая комнатную муху. Он показал умеренную токсичность для чувствительной лабораторной культуры и трёх природных популяций комнатной мухи в Японии (ПР=0.5–1.9х) (Shono et al., 2004). Несколько выше устойчивость комнатной мухи в Пакистане – ПР варьируют от 3.0х до 7.1х (Khan et al., 2013). Предполагается, что индоксакарб эффективен в борьбе с насекомыми, у которых развилась устойчивость к карбаматам, ФОС, фенилпиразолам и пиретроидам (McCann et al., 2001; Chai, Lee, 2010). В настоящее время в России в области медицинской дезинсекции зарегистрировано несколько эффективных в отношении мультирезистентных культур комнатной мухи пищевых приманок, содержащих индоксакарб (Еремина и др., 2022).

**Пирролы: хлорфенапир.** Культура КСК-2 оказалась слабо толерантна (ПР=1.25х) к хлорфенапиру, тогда как три остальные культуры комнатной мухи проявили в несколько

раз большую чувствительность, чем культура S-НИИД. Имеются данные литературы о перекрестной устойчивости к хлорфенапиру резистентной к имидаклоприду (ПР=78х) культуры комнатной мухи (Ma et al., 2017). Известно, что хлорфенапир в 5 раз более инсектициден для резистентной к пиретроидам мухи-жигалки *Haematobia irritans* (L.), (Diptera: Muscidae), чем для чувствительной мухи. Авторы связывают этот факт с повышенным уровнем монооксигеназ у резистентной мухи, которые участвуют в превращении проинсектицида в активный метаболит (Sheppard, Joise, 1998).

В России в области медицинской дезинсекции зарегистрировано 3 инсектицидных средства, содержащих смесь хлорфенапира и пиретроида (альфациперметрина или бифентрина), эффективных в отношении мультирезистентных рас синантропных тараканов (<https://portal.eaeunion.org>, дата обращения 22.09.2022; Еремина, Олифер, 2020).

### Заключение

Резистентность к пестицидам у комнатных мух, как и у других насекомых, возникает при жестком отборе, когда популяция контактирует с инсектицидом на стадии личинок (обработка мест выплода) или имаго (при посадке насекомых на обработанные поверхности или при поедании отравленных приманок). Применение инсектицидных препаратов в сфере медицинской дезинсекции регламентируется при помощи системы регистрации в Евразийской Экономической Комиссии. В едином реестре свидетельств о государственной регистрации приведены сведения о всех зарегистрированных в установленном порядке и разрешенных для применения инсектицидных средствах (<https://portal.eaeunion.org>. Дата обращения 22.09.2022). В сельском хозяйстве необходимо следовать справочнику пестицидов и агрохимикатов (<https://www.agroxxi.ru/goshandbook>. Дата обращения 22.09.2022).

Накопленные нами данные свидетельствуют о мультирезистентности комнатной мухи практически ко всем традиционно применяемым инсектицидам. Отбор устойчивых насекомых в популяциях идет, по-видимому, сразу по всем направлениям: накопление мутаций, приводящих к нечувствительности места действия; изменение активности ферментов, принимающих участие в детоксикации пестицидов; изменение скорости выведения инсектицидов из клеток с помощью АВС-транспортёров. Снижается проникновение инсектицидов в организм резистентных насекомых в результате усиления экспрессии метаболической устойчивости в покровах, повышенного присутствия связывающих белков, липидов, склеротизации, задерживающей инсектициды, толстой кутикулы, сочетания некоторых или всех этих механизмов вместе (цит. по Lilly et al., 2016; Balabanidou et al., 2016). Механизмы резистентности описываемых в настоящем исследовании культур комнатной мухи нуждаются в дальнейшем изучении.

Частота использования инсектицидов тех или иных химических классов приводит к резистентности целевого объекта. Широкое применение пиретроидов в животноводстве привело к высокой устойчивости к ним комнатной мухи – места выплода личинок постоянно загрязняются этими инсектицидами. Кроме того, подавляющее число средств, применяемых в медицинской дезинсекции в отношении имаго, например, средства в аэрозольных упаковках, содержат пиретроиды. Высокая устойчивость к неоникотиноидам обусловлена частым применением их в виде отравленных приманок на объектах животноводства. К новым для нашей страны представителям классов оксадиазинов и пирролов исследованные культуры комнатной мухи чувствительны.

### Библиографический список (References)

- Давлианидзе ТА (2021) Обратимость нокдаун-эффекта при применении аэрозолей против резистентных к пиретроидам комнатных мух. *Дезинфекционное Дело*. 116(2):30–36. DOI: 10.35411/2076-457X-2021-2-30-36
- Давлианидзе ТА, Еремина ОЮ (2021) Санитарно-эпидемиологическое значение и резистентность к инсектицидам природных популяций комнатной мухи *Musca domestica*. *Вестник Защиты растений*. 104(2):72–86. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-3-15037>
- Еремина ОЮ, Олифер ВВ (2020) Обоснование количественных соотношений действующих веществ при создании двухкомпонентных инсектицидных средств для преодоления резистентности насекомых *Дезинфекционное Дело*. 112(2):34–43. DOI: 10.35411/2076-457X-2020-2-34-43
- Еремина ОЮ, Олифер ВВ, Давлианидзе ТА (2022) Перспективы применения приманок на основе современных действующих веществ для борьбы с комнатными мухами. *Дезинфекционное Дело*. 119(1):24–28. DOI: 10.35411/2076-457X-2022-1-33-37
- Левченко МА (2020) Оценка эффективности фипронила и хлорфенапира против *Musca domestica* L. на объектах ветеринарного надзора. *Вестник Красноярского Государственного Аграрного Университета*. 12:147–151.
- Левченко МА, Силиванова ЕА, Плашкина ВА, Шумилова ПА (2019) Резистентность природных популяций *Musca domestica* L. к современным инсектицидам. *Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. (4):407–412.
- Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство Р 4.2.3676-20. п. 4.16.4. С. 303.
- Рославцева СА (2006) Резистентность к инсектоакарицидам членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение. М.: Компания Спутник+. 130 с.
- Abbas N, Khan HAA, Shad SA (2014) Cross-resistance, genetics, and realized heritability of resistance to fipronil in the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae): a potential vector for disease transmission. *Parasitol Res* 113:1343–1352. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3773-4>.
- Abbas N, Shad SA, Shah RM (2015) Resistance status of *Musca domestica* L. populations to neonicotinoids and insect growth regulators in Pakistan poultry facilities. *Pakistan J Zool* 47(6):1663–1671.
- Balabanidou V, Kampouraki A, MacLean M, Blomquist GJ, Tittiger C, et al (2016) Cytochrome P450 associated with insecticide resistance catalyzes cuticular hydrocarbon production in *Anopheles gambiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 113(33):9268–9273. <https://doi.org/10.1073/pnas.1608295113>.

- Başkurt S, Taşkın BG, Doğaç E, Taşkın V (2011) Polymorphism in the acetylcholinesterase gene of *Musca domestica* L. field populations in Turkey. *J Vector Ecol* 36(2):248–257. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00165.x>
- Benzidane Y, Touinsi S, Motte E, Jadas-Hécart A, Communal PY, et al (2010) Effect of thiamethoxam on cockroach locomotor activity is associated with its metabolite clothianidin. *Pest Manag Sci* 66(12):1351–1359. <https://doi.org/10.1002/ps.2022>
- Biale H, Geden CJ, Chiel E (2017) Effects of pyriproxyfen on wild populations of the housefly, *Musca domestica*, and compatibility with its principal parasitoids. *Pest Manag Sci* 73(12):2456–2464. <https://doi.org/10.1002/ps.4638>
- Burgess ER, Geden CJ, Lohmeyer KH, King BH, Machtinger ET, et al (2020) Toxicity of fluralaner, a companion animal insecticide, relative to industry-leading agricultural insecticides against resistant and susceptible strains of filth flies. *Sci Rep* 10(1):11166. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68121-z>
- Chai RY, Lee CY (2010) Insecticide resistance profiles and synergism in field populations of the German cockroach (Diptera: Blattellidae) from Singapore. *J Econ Entomol* 103(2):460–471. <https://doi.org/10.1603/ec09284>
- Davies MP, Anderson M, Hilton AC (2016) The housefly *Musca domestica* as a mechanical vector of *Clostridium difficile*. *J Hosp Infect* 94(3):263–267. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2016.08.023>
- Finney DJ (1971) Probit analysis. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Gao JR, Kozaki T, Leichter CA, Rinkevich FD, Shono T, et al (2007) The A302S mutation in Rdl that confers resistance to cyclodienes and limited cross-resistance to fipronil is undetectable in field populations of house flies from the USA. *Pestic Biochem Physiol* 88(1):66–70.
- Hu IH, Tzeng HY, Chen ME, Lee CY, Neoh KB (2021) Association of CYP4G19 expression with gel bait performance in pyrethroid-resistant German cockroaches (Blattodea: Ectobiidae) from Taiwan. *J Econ Entomol* 114(4):1764–1770. <https://doi.org/10.1093/jee/toab104>
- Khamesipour F, Lankarani KB, Honarvar B, Kwenti TE (2018) A systematic review of human pathogens carried by the housefly (*Musca domestica* L.). *BMC Public Health* 18(1):1049. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5934-3>
- Khan HAA (2020) Side effects of insecticidal usage in rice farming system on the non-target house fly *Musca domestica* in Punjab, Pakistan. *Chemosphere* 241:125056. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125056>
- Khan HAA, Akram W, Iqbal J, Naeem-Ullah U (2015) Thiamethoxam resistance in the house fly, *Musca domestica* L.: current status, resistance selection, cross-resistance potential and possible biochemical mechanisms. *PLoS One* 10(5):e0125850. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125850>
- Khan HAA, Shad SA, Akram W (2013) Resistance to new chemical insecticides in the house fly, *Musca domestica* L., from dairies in Punjab, Pakistan. *Parasitol Res* 112(5):2049–2054. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3365-8>
- Kozaki T, Shono T, Tomita T, Kono Y (2001) Fenitroxon insensitive acetylcholinesterases of the house fly, *Musca domestica* associated with point mutations. *Insect Biochem Mol Biol* 31:991–997. [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(01\)00047-9](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(01)00047-9)
- Kristensen M, Huang J., Qiao CL, Jespersen JB (2006) Variation of *Musca domestica* L. acetylcholinesterase in Danish house fly populations. *Pest Manag Sci* 62:738–745. <https://doi.org/10.1002/ps.1231>
- Kristensen M, Jespersen JB (2008) Susceptibility to thiamethoxam of *Musca domestica* from Danish livestock farms. *Pest Manag Sci*. 64(2):126–132. <https://doi.org/10.1002/ps.1481>
- Kristensen M, Jespersen JB, Knorr M (2004) Cross-resistance potential of fipronil in *Musca domestica*. *Pest Manag Sci*. 60(9):894–900. <https://doi.org/10.1002/ps.883>
- Lilly DG, Latham SL, Webb CE, Doggett SL (2016) Cuticle thickening in a pyrethroid-resistant strain of the common bed bug, *Cimex lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae). *PLoS One* 11(4): e0153302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153302>
- Liming T, Míngan S, Jiangzhong Y, Peijun Z, Chuanxi Z, et al (2006) Resistance pattern and point mutations of insensitive acetylcholinesterase in a carbamate-resistant strain of house fly (*Musca domestica*). *Pest Biochem Physiol* 86:1–6. [doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.12.004](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.12.004)
- Ma Z, Li J, Zhang Y, Shan C, Gao X (2017) Inheritance mode and mechanisms of resistance to imidacloprid in the house fly *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) from China. *PLoS One* 12(12): e0189343. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189343>
- Markussen MDK, Kristensen M (2010) Cytochrome P450 monooxygenase-mediated neonicotinoid resistance in the house fly *Musca domestica* L. *Pestic Biochem Physiol* 98(1):50–58.
- McCann SA, Annis GD, Shapiro R, Piotrowski DW, Lahm GP, et al (2001) The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides. *Pest Manag Sci* 57(2):153–164. [https://doi.org/10.1002/1526-4998\(200102\)57:2<153::AID-PS288>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1526-4998(200102)57:2<153::AID-PS288>3.0.CO;2-O)
- Pezzi M, Lanfredi M, Chicca M, Tedeschi P, Brandolini V, et al (2011) Preliminary evaluation of insecticide resistance in a strain of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) from an intensive chicken farm of Northern Italy. *J Env Sci Health* 46(6):480–485. <https://doi.org/10.1080/03601234.2011.583866>
- Scott JG (2017) Evolution of resistance to pyrethroid insecticides in *Musca domestica*. *Pest Manag Sci* 73(4):716–722. <https://doi.org/10.1002/ps.4328>
- Sheppard CD, Joyce JA (1998) Increased susceptibility of pyrethroid-resistant horn flies (Diptera: Muscidae) to chlorfenapyr. *J Econ Entomol* 91(2):398–400.
- Shono T, Zhang L, Scott JG (2004) Indoxacarb resistance in the house fly, *Musca domestica*. *Pestic Biochem Physiol* 80(2):106–112.
- Sial MU, Mehmood K, Saeed S, Husain M, Rasool KG, et al (2022) Neonicotinoid's resistance monitoring, diagnostic mechanisms and cytochrome P450 expression in green peach aphid [*Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)]. *PLoS One* 7(1):e0261090.
- Sparks TC, Nauen R (2015) IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic Biochem Physiol* 121:122–128. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.014>
- Stamm MD, Baxendale FP, Heng-Moss TM, Siegfried BD, Blankenship EE, et al (2011) Dose-response relationships of clothianidin, imidacloprid, and thiamethoxam to *Blissus*

- occidius* (Hemiptera: Blissidae). *J Econ Entomol* 104(1):205–210. <https://doi.org/10.1603/ec10268>
- Walsh SB, Dolden TA, Moores GD, Kristensen M, Lewis T, et al (2001) Identification and characterization of mutations in housefly (*Musca domestica*) acetylcholinesterase involved in insecticide resistance. *Biochem J* 359:175–181. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3590175>
- Wang JN, Hou J, Wu YY, Guo S, et al (2019) Resistance of house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), to five insecticides in Zhejiang province, China: the situation in 2017. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 4851914. <https://doi.org/10.1155/2019/4851914>
- Xu X, Ding Q, Wang X, Wang R, Ullah F, et al (2022) V101I and R81T mutations in the nicotinic acetylcholine receptor  $\beta 1$  subunit are associated with neonicotinoid resistance in *Myzus persicae*. *Pest Manag Sci* 78(4):1500–1507. <https://doi.org/10.1002/ps.6768>
- Zhang J, Cui L, Xu X, Rui C (2015) Frequency detection of imidacloprid resistance allele in *Aphis gossypii* field populations by real-time PCR amplification of specific-allele (rtPASA). *Pestic Biochem Physiol* 125:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.06.001>
- Zhang Y, Li J, Ma Z, Shan C, Gao X (2018) Multiple mutations and overexpression of the MdaE7 carboxylesterase gene associated with male-linked malathion resistance in housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Sci Rep* 8:224. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17325-x>

#### Translation of Russian References

- Davlianidze TA (2021) [Reversibility of the knockdown effect in the application of aerosols against pyrethroid-resistant houseflies]. *Dezinfektsionnoye Delo*. 2:30–36. (In Russian)
- Davlianidze TA, Eremina OYu (2021) [Sanitary and epidemiological significance and resistance to insecticides of natural populations of the *Musca domestica* housefly]. *Vestnik Zashchity rasteniy* 104(2):72–86. (In Russian)
- Eremina OYu, Olifer VV (2020) [Substantiation of the quantitative ratios of active substances in the creation of two-component insecticidal agents to overcome insect resistance]. *Dezinfektsionnoye Delo* 2:34–43. (In Russian)
- Eremina OYu, Olifer VV, Davlianidze TA (2022) [Prospects for the use of baits based on modern active ingredients to control house flies]. *Dezinfektsionnoye Delo* 1:24–28. (In Russian)
- Levchenko MA (2020) [Evaluation of the effectiveness of fipronil and chlorfenapir against *Musca domestica* L. at the objects of veterinary supervision]. *Vestnik Krasnoyarskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta*. 12:147–151 (In Russian)
- Levchenko MA, Silivanova YeA, Plashkina VA, Shumilova PA (2019) [Resistance of natural populations of *Musca domestica* L. to modern insecticides]. *Rossiyskiy zhurnal Problemy veterinarnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii*. No. 4: 407–412 (In Russian)
- [Methods of laboratory research and testing of disinfectants to assess their effectiveness and safety. Guide R 4.2.3676-20]. paragraph 4.16.4. P.303 (In Russian)
- Roslavtseva SA (2006) [Resistance to insectoacaricides of arthropods of epidemiological and sanitary-hygienic importance]. M.: Kompaniya Sputnik+, 130 p. (In Russian)

Plant Protection News, 2022, 105(3), p. 114–121

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-3-15346>

**Full-text article**

## RESISTANCE TO INSECTICIDES OF HOUSEFLY *MUSCA DOMESTICA* IN THE CENTER OF THE EUROPEAN PART OF RUSSIA

T.A. Davlianidze, O.Yu. Eremina\*, V.V. Olifer

*Institute of Disinfectology, Mytishi town, Moscow Province, Russia*

\*corresponding author, e-mail: [eremina\\_insect@mail.ru](mailto:eremina_insect@mail.ru)

Under laboratory conditions, resistance to insecticides from various chemical classes of several strains of the housefly, *Musca domestica*, obtained from populations collected at facilities in the Moscow and Kaluga regions (KSK-1 in a cowshed and KSK-2 in the stable of an equestrian sports club, Krasnogorsk – at a food facility, Kaluga – in the compost of a garden non-profit partnership). It was found that when insecticides were applied topically, houseflies of all the studied strains had the highest resistance to cypermethrin (RF=75–900x) and to neonicotinoid compounds thiamethoxam and clothianidin (RF=95–330x). High resistance to fipronil was found in two strains of fly (RF= 46–75x). Strain KSK-1 was weakly tolerant to chlorpyrifos (RF=3.7x), while the other strains were susceptible. All the studied house fly strains were more susceptible to indoxacarb and chlorfenapyr than the laboratory strain S-NIID. The data indicate that studied housefly strains are multiresistant to almost all commonly used insecticides. Possible mechanisms of insect resistance to insecticides are discussed. Frequent use of insecticides of various chemical classes led to resistance in the target pest. Widespread use of pyrethroids in animal facilities has led to high resistance to them in the house fly because places where larvae hatch are constantly polluted with these insecticides. High resistance to neonicotinoids is also due to their frequent use as poisoned baits in livestock facilities. To the contrary, the studied housefly strains remained susceptible to the tested oxadiazines and pyrroles, chemical classes that were recently introduced to Russia.

**Keywords:** pyrethroid, neonicotinoid, organophosphate, phenylpyrazole oxadiazines, pyrroles

Submitted: 26.05.2022

Accepted: 03.09.2022

© Davlianidze T.A., Eremina O.Yu., Olifer V.V., published by All-Russian Institute of Plant Protection (St. Petersburg).

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).