

УДК 574.476

ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ *GALLERIA MELLONELLA* ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМ ГРИБОМ *LECANICILLIUM MUSCARIUM*

А.Л. Первушин¹, В.Ю. Крюков², Г.В. Митина¹, О.Г. Томилова²

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, lp901@mail.ru,

²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия, krukoff@mail.ru

Показано, что инфицирование неспецифического хозяина *G. mellonella* грибом *L. muscarium* естественным путем через кутикулу не происходит, но возможно интрагемоцеллюлярным методом. Отмечено увеличение количества гемоцитов в гемолимфе гусениц через 1–2 дня после инъекции по сравнению с контролем. Смертность личинок составила 100% на 4–5 сутки после заражения. *G. mellonella* может использоваться в качестве тест объекта для исследования иммунных реакций на заражение грибом *L. muscarium*.

Ключевые слова: сосущие вредители, *Lecanicillium muscarium*, большая пчелиная огневка *Galleria mellonella*.

Микозы сосущих насекомых (тлей, белокрылок, трипсов), вызываемые грибом *Lecanicillium muscarium*, детально изучены, однако, их защитные реакции практически не изучались из-за сложностей выделения гемоцитов. Известно, что этот вид ЭГ также выделяет различные токсины, участвующие в процессе патогенеза [Butt et al., 2009; Krasnoff et al., 2010]. В качестве модельного объекта нами была использована большая пчелиная огневка *Galleria mellonella*, которая широко применяется для изучения защитных реакций и иммунного ответа при заражении энтомопатогенными грибами [Butt et al., 2000].

В работе был использован высоковирулентный штамм гриба *L. muscarium* VI 72 с выраженной «эпизоотийной стратегией» в отношении к сосущим вредителям [Митина и др., 2014]. Заражение личинок 3-го возраста бластоспорами проводили двумя способами: перкутаным (путем погружения в суспензию конидий) и интрагемоцеллюлярным (спомощью инъекции бластоспор в ложноножку). В качестве контроля проводили погружение насекомых в физиологический раствор или его инъекцию. Учеты смертности проводили в течение 10 суток, начиная со 2-х суток после заражения.

При перкутанном инфицировании грибом *L. muscarium* VI 72 смертности личинок *G. mellonella* не наблюдалось. При заражении интрагемоцеллюлярным методом уже на первые сутки после инъекции были отмечены отдельные точечные пятна меланизации по всей поверхности тела гусениц. В гемолимфе зараженных гусениц на 2–3 сутки было отмечено повышение общего числа гемоцитов по сравнению с контролем (рис.). В последующие сутки отмечали существенное снижение уровня гемоцитов, что

свидетельствует о развитии патогенного процесса, вызванного *L. muscarium* и подавлении клеточного иммунитета. Смертность (100%) опытных личинок наступала на 4–5 сутки. В контроле наблюдали повышение уровня гемоцитов, возможно, вызванное введением физиологического раствора. После помещения зараженных гусениц во влажные камеры наблюдали рост гриба, начиная с места инъекции, по поверхности кутикулы.

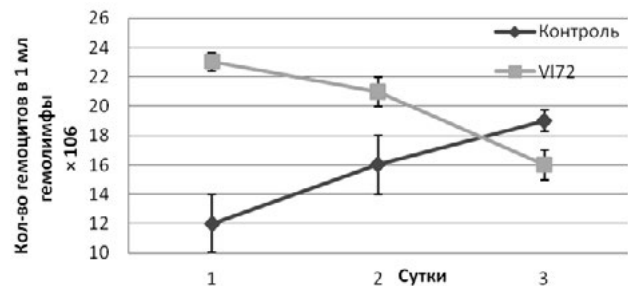


Рисунок. Динамика гемоцитов *G. mellonella* при заражении бластоспорами гриба *L. muscarium* штамм VI 72

Таким образом, инфицирование неспецифического хозяина *G. mellonella* грибом *L. muscarium* естественным путем через кутикулу не происходит. Большая пчелиная огневка может быть использована в качестве тест-объекта для изучения иммунного ответа при заражении *L. muscarium* интрагемоцеллюлярным методом. В дальнейшем необходимо изучить более детально иммунный ответ *G. mellonella* на заражение *L. muscarium* путем определения соотношения типов гемоцитов. Разработанный подход может быть использован для сравнительной оценки патогенных свойств штаммов грибов рода *Lecanicillium*.

Работа выполнена при поддержке гранта Мол_Нр.

Библиографический список (References)

Митина Г.В., Сендерский И.В., Первушин А.Л. Особенности развития микозов оранжевой белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* в зависимости от паразитизма штаммов *Lecanicillium muscarium* // Евразийский энтомолог. журнал. 2014. 13(6): 503

Butt T.M. and Goettel M.S. Bioassays of Entomogenous Fungi. In: Navon, A. and Ascher, K.R.S., Eds., Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes, CAB International, Wallingford, UK, 141–195. Butt T. M., El

Hadj N. B., Skrobek A., et al. 2009. Mass spectrometry as a tool for the selective profiling of destruxins; their first identification in *Lecanicillium longisporum* // Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2000 Vol. 23, N 10. P. 1426–1434.

Krasnoff S.B., Keresztes I., Gillilan R.E., et al. Secondary metabolites from entomopathogenic Hypocrealean fungi // This journal is The Royal Society of Chemistry Nat. Prod. Rep., 2010, 27, 1241–1275

DEFENSIVE REACTIONS OF *GALLERIA MELLONELLA*, CAUSED BY THE INFECTION
WITH ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *LECANICILLIUM MUSCARIUM*

A.L. Pervushin¹, V.Y. Kryukov², G.V. Mitina¹, O.G. Tomilova²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, lp901@mail.ru,

²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, krukoff@mail.ru

It has been shown that infection of nonspecific host *G. mellonella* with fungus *L. muscarium* does not occur naturally through the cuticle. However, after injection we observed an increasing hemocytes count in the hemolymph of caterpillars at the 1–2 days after infection and following decreasing in comparison with the control. Mortality of larvae was 100% at 4–5 day after injection. *G. mellonella* can be used as a test object for the study of the immune response to infection with fungus *L. muscarium*.