

В. Ю. КРЮКОВ, Н. А. КРЮКОВА, В. В. ГЛУПОВ

Может ли иммунитет хозяина работать на паразита?

Взаимодействия
между
микробиотой
и паразитами
у насекомых-
вредителей

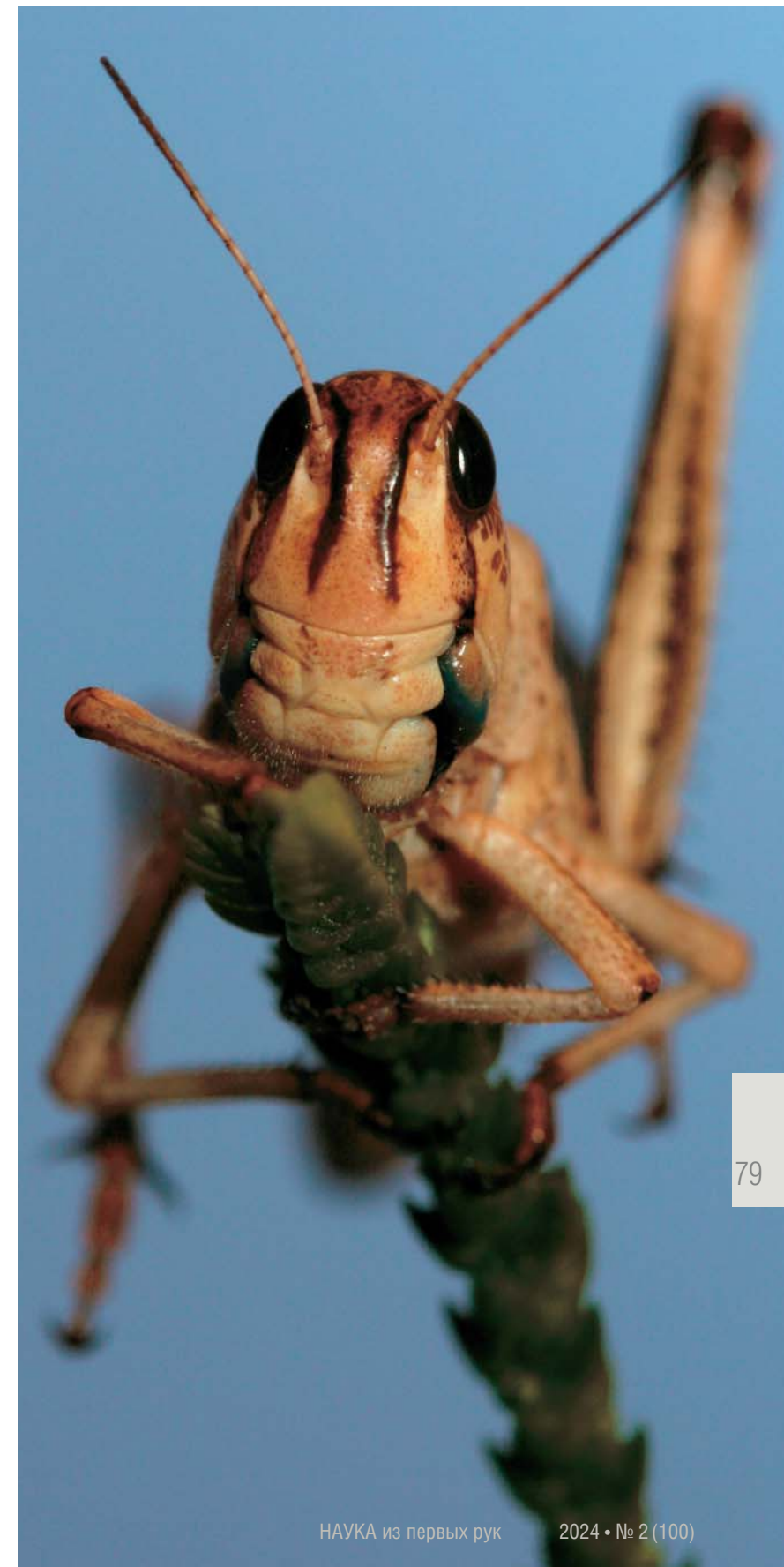


История борьбы с вредителями растений, вероятно, началась с появления земледелия, насчитывающего не менее десятка тысячелетий. Из письменных источников известно, что еще древние шумеры и египтяне использовали против насекомых и клещей серу, древнегреческий поэт Гомер упоминал о применении огня для защиты от саранчи, а средневековый философ и врач Авиценна — об инсектицидном действии мирта и полыни. С середины XIX в. изучение вредителей сельскохозяйственных и декоративных культур, включая насекомых, и борьба с ними были поставлены на научную основу. На смену веществам природного происхождения пришли пестициды, которые помогли решить проблему обеспечения продовольствием быстрорастущего человечества. Но у этих «спасителей» оказалось немало минусов, в первую очередь токсичность и избирательность поражения. Но альтернатива химическим средствам защиты растений есть — это биопестициды, биоактивные соединения, синтезируемые живыми организмами, либо сами живые существа. Методы такого экологически безопасного контроля численности вредителей были опробованы еще более 3 тыс. лет назад в Китае, где для защиты садов от насекомых использовали (и используют до сих пор!) хищных муравьев. Активные работы и научные исследования в этом направлении ведутся с конца XIX в. Так что сегодня для борьбы с вредителями задействованы самые различные виды живых организмов: бактерии, грибы и животные, а также вторичные метаболиты растений. Среди таких существ немало паразитов, которые могут вступать в непростые взаимоотношения с организмом своего хозяина-насекомого, включая его микроскопических сожителей, что отражается на результативности этого «биологического оружия»

Слева — энтомопатогенный гриб кордицепс военный (*Cordyceps militaris*). Фото В. Глупова

Гусеница бабочки-сфинкса, в которой окукливаются личинки паразитоидной осы. © CC BY-NC 2.0/ Anita Gould

Справа — взрослая особь перелетной саранчи (*Locusta migratoria*). © CC BY 2.0/ Marta Boron





ГЛУПОВ Виктор Вячеславович – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, главный сотрудник лаборатории патологии насекомых и директор Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск). Лауреат премии имени Е. Н. Павловского за серию работ по сравнительной иммунологии, патологии и паразитологии насекомых (2014). Автор и соавтор свыше 250 научных работ, включая 2 монографии и 3 патента

Ключевые слова: инсектициды, насекомые-вредители, иммунитет, микробиота, паразиты, паразитоиды, энтомопатогенные грибы, колорадский жук, вошинная огневка.

Key words: insecticides, insect pests, immunity, microbiota, parasites, parasitoids, entomopathogenic fungi, Colorado potato beetle, waxy moth

Справа вверху – опрыскивание леса инсектицидом на основе бактерии *Bacillus thuringiensis* в рамках проекта по борьбе с западной еловой листоверткой (*Choristoneura occidentalis*). 1988 г. Национальный заповедник Маунт-Худ, США. *Public Domain / W. Ciesla, USDA Forest Service, Region 6, State and Private Forestry, Forest Health Protection*



КРЮКОВА Наталья Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник и заведующая лабораторией патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 60 научных работ



КРЮКОВ Вадим Юрьевич – доктор биологических наук, заведующий лабораторией экологической паразитологии Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 105 научных работ, включая 1 монографию и 6 патентов

© В. Ю. Крюков, Н. А. Крюкова, В. В. Глунов, 2024

Насекомые-вредители могут уничтожать до 100 % урожая сельскохозяйственных культур, приводя к колоссальному экономическому ущербу; не меньший урон наносят и вредители леса. К примеру, только в Сибири в 2017 г. *сибирским шелкопрядом* – крупной невзрачной бабочкой, гусеницы которой питаются хвоей, – было поражено около 1,3 млн га лесных массивов.

Для борьбы с такими вредителями используют преимущественно синтетические *инсектициды*, при этом главной проблемой становится быстрое формирование у насекомых устойчивости к этим токсическим соединениям. К тому же подобные методы приводят к загрязнению окружающей среды и могут принести вред не только полезным насекомым, но и другим животным и человеку. Одним из отдаленных негативных последствий применения инсектицидов для здоровья человека является увеличение риска развития онкологических заболеваний, патологий репродуктивной, иммунной и нервной систем.

Все это побуждает ученых искать экологически безопасные способы подавления численности вредных насекомых. И один из них – использование специализированных паразитов, хозяевами для которых служат исключительно насекомые и которые не представляют угрозу для других животных, включая теплокровных.



Гусеницы непарного шелкопряда (*Lymantria dispar*) при массовой вспышке размножения вредителя захватывают огромные территории и приносят вред разным видам деревьев, включая плодовые и хвойные. Фото В. Глунова





Взрослая особь перелетной саранчи, погибшая от заражения паразитическим грибом *Metarhizium robertsii*. Слева – рост колонии гриба *Metarhizium* на искусственной питательной среде. Фото В. Крюкова

На насекомых паразитируют те же группы организмов, что и на млекопитающих (простейшие, бактерии, грибы, паразитические черви, другие членистоногие), при этом их разнообразие намного выше. Это объясняется большим числом видов самих насекомых, отсутствием у них постоянной температуры тела, а также широким спектром местообитаний.

Как и у других организмов, развитие паразитоза у насекомых – это сложный многоступенчатый процесс, зависящий от характеристик самого паразита, физиологического состояния и иммунного статуса хозяина, факторов внешней среды. Но есть и важное отличие: у насекомых заражение чаще приводит к летальному исходу для жертвы. Паразиту зачастую необходимо убить своего прокормителя, чтобы завершить свой жизненный цикл и дать дочернее поколение. Так ведут себя некоторые бактерии, почти

Азиатская, или перелетная, саранча (*Locusta migratoria*) – крупное (длиной 3,5–6,5 см) насекомое-фитофаг. В фазу стадной жизни личинки этого злостного вредителя зерновых способны преодолевать за сутки расстояния в десятки километров по земле, а взрослые особи – сотни километров по воздуху. Для борьбы с перелетной саранчой сейчас используют разные методы: от химических пестицидов до биопрепаратов, таких как *Green Muscle* против стадных саранчовых, созданный на основе энтомопаразитических грибов рода *Metarhizium*.

Этот род грибов насчитывает более 80 видов, которые поражают насекомых-вредителей из разных таксономических групп, включая колорадского жука, проволочников, медведок, пластинчатоусых жуков и др. Среди этих грибов есть как малоспециализированные виды, так и виды, поражающие лишь определенные таксоны. Споры грибов содержатся в почве природных биоценозов и агроландшафтов; попадая на покровы насекомых, они прорастают внутрь тела, поражая внутренние органы. *Metarhizium* – один из наиболее глубоко изученных патогенов насекомых, которому посвящены тысячи экспериментальных статей и сотни обзоров. На основе этих грибов в мире было разработано более сотни биопрепаратов. В частности, над *Green Muscle* в течение 13 лет трудился большой коллектив ученых, технологов и бизнесменов из Европы, Северной Америки и Африки. Работа шла в рамках исследовательской программы *Lubilosa*, направленной на создание биологической альтернативы химической борьбы с саранчой. В результате удалось вывести на рынок формы препарата, обеспечивающие защиту грибных спор, наладить массовое производство, найти новые способы опрыскивания



Cordyceps – род спорыньевых грибов, представители которого паразитируют преимущественно на личинках, куколках и взрослых насекомых. Кордицепс проникает в полость тела хозяина, а затем образует характерный вырост – так называемую строму, аналог плодового тела. Грибы родственных таксонов высоко ценятся в китайской медицине, а в последние годы продаются в качестве БАДов в Европе и США.

На фото – куколка бабочки хохлатки, пораженная *C. militaris*. Новосибирская обл. Фото В. Глупова



Колорадский жук, или картофельный листоед (*Leptinotarsa decemlineata*), – яркий пример опасного инвазивного вида, завезенного человеком на новые территории. Этот североамериканский любитель растений из семейства пасленовых, к которым относятся картофель, томат и баклажан, в 1870-х гг. вместе с грузовыми судами добрался до Европы, откуда к концу прошлого века распространился до Дальнего Востока.

У этого вида зимуют только взрослые особи, которые осенью зарываются в почву и выходят на поверхность с наступлением теплых дней, при этом выход может очень растянуться. А часть популяции способна в состоянии покоя находиться в почве несколько лет.

Природных врагов у колорадского жука немного, в том числе из-за высокого содержания в его теле токсинов – результата пасленовой диеты. Один из предполагаемых врагов – вирус *Leptinotarsa iflavirus 1*, впервые описанный из популяции жука на юге Западной Сибири. Эта инфекция ассоциирована с характерными симптомами. Погибшие личинки принимают типичную позу: их тело, как и конечности, полностью распрямляются, ноги расходятся в разные стороны. По предварительным данным новосибирских специалистов, до 60% личинок колорадского жука может спонтанно погибать от этой вирусной инфекции. Геном ифлавируса был недавно расшифрован (Antonets *et al.*, 2024), что открывает перспективы разработки новых способов биологического контроля этого опасного вредителя

Муравей, погибший от заражения энтомопатогенным грибом. Фото В. Глупова

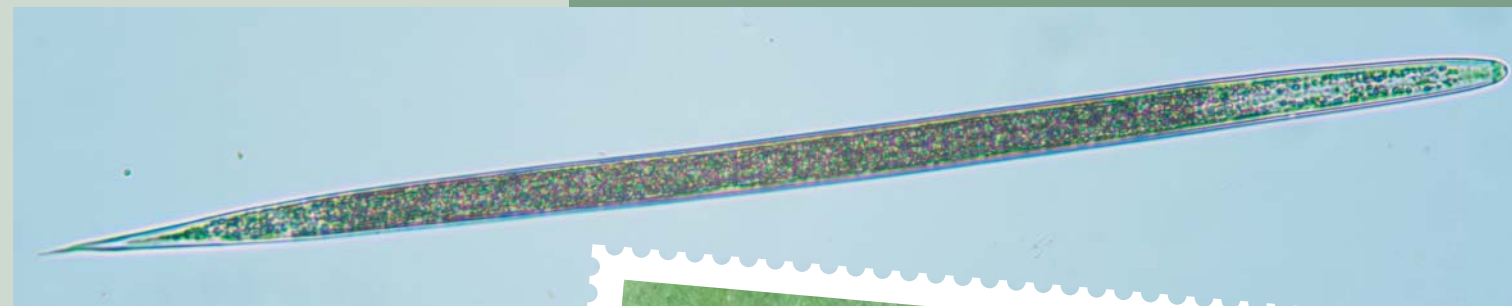
все паразитические грибы-аскомицеты (например, широко известные спорыньевые грибы из рода *Cordyceps*), многие круглые черви-нематоды.

Подобная стратегия характерна для паразитов – организмов, которые проводят значительную часть жизни на покровах или внутри своего хозяина, питаются его тканями и постепенно убивают. Поэтому паразитоиды-энтомофаги, обитающие на насекомых, играют существенную роль при создании интегрированных методов защиты растений. Они особенно эффективны против скрытно живущих насекомых, которые используют растения не только как пищу, но и в качестве укрытия, что усложняет борьбу с этими вредителями. К таким видам относятся, к примеру, хлопковая совка, гусеницы которой «прячутся» в коробочках хлопчатника, или кукурузный мотылек, зимующий в стеблях поврежденных им растений.

Между микробиотой и паразитом

Восприимчивость насекомых-вредителей к паразитам определяется целым рядом факторов. Во-первых, это вирулентность самого патогена, т.е. его способность заразить данный организм. Во-вторых – внешние факторы, в первую очередь интенсивность ультрафиолетового излучения, влажность и температура. Так, в солнечный день УФ-излучение может за несколько часов уничтожить споры патогена. При низкой влажности снижается вирулентность паразитических грибов и нематод, а при высоких и низких (> 35 и < 10 °C) температурах их рост замедляется.

Действие этих факторов особенно важно для подавления численности насекомых в открытом грунте, тогда как в теплицах можно создать более контролируемые условия. Но в любом случае проблемы можно решить, к примеру, селекцией штаммов, устойчивых к высоким температурам и низкой влажности, введением в препараты УФ-протекторов.



Энтомопатогенные круглые черви-нематоды проникают в тело колорадских жуков, зарывшихся на зимовку. Они инфицируют хозяина своими симбиотическими бактериями рода *Photorhabdus*, которые подавляют его иммунитет и выделяют метаболиты, вызывающие гибель жука. Погибшие особи приобретают тусклую темно-серую окраску, а при надавливании из них вытекает жидкость (справа). Разжиженные внутренности жука становятся источником пищи для нематод. В Западной Сибири эти круглые черви поражают до 10% зимующих колорадских жуков. Вверху – паразитическая нематода, выделенная из жука, зимующего на юге Новосибирской области. Фото П. Власенко и О. Ярославцева



Такая поза личинки колорадского жука ассоциирована с гибелью от инфекции, вызванной вирусом *Leptinotarsa iflavirus 1*. Фото В. Крюкова



Не менее важным является состояние здоровья самих насекомых-вредителей, и в первую очередь характеристики их иммунитета, состав и численность обитающих в них микробов. Нужно отметить, что в последнее время в биологии и медицине все шире используется такое понятие, как *микробиота*, под которым подразумевается все сообщество МИКРОорганизмов, населяющих МАКРОорганизм. Еще один популярный термин – *микросимбиоз* – акцентирует внимание на сложных взаимосвязях как между самими микробными ассоциациями, так и между ними и хозяином и окружающей средой. Именно эти взаимоотношения в значительной мере определяют возможности организма хозяина обеспечить свой *гомеостаз* – жизненно важное постоянство внутренней среды.

Микробиота насекомых, как и млекопитающих и других позвоночных, участвует в выполнении ряда важных функций организма, включая пищеварение, сигнальные взаимодействия, детоксикацию, защиту от патогенов и др. Как и у других животных, у насекомых наиболее многочисленными и разнообразными являются микробные сообщества кишечника и наружного покрова, представленного у них многослойной *кутикулой*, служащей внешним скелетом. Внутренние органы у насекомых также часто нестерильны – в них имеются как внутриклеточные, так и свободно циркулирующие микробы.

Важно подчеркнуть, что структура такой микробиоты зависит от питания и других условий и может подвергаться значительным перестройкам в течение жизненного цикла, а также при заражении теми или иными патогенами. И в последнем случае роль этого сообщества может быть двойной.

Бактерии – патриоты и оппортунисты

Известны примеры, когда бактерии-симбионты насекомых повышают их устойчивость к паразитическим грибам или паразитоидам.

Так, *Hamiltonella defensa*, симбиотическая внутриклеточная бактерия тлей и других насекомых, питающихся соком растений, защищает хозяина от злейшего врага – паразитических ос-наездников *Aphidius ervi*. Взрослые осы откладывают свои яйца в тела тлей, и развивающиеся там личинки убивают своих хозяев. Гамильтонелла вырабатывает токсический белок, который приводит к гибели личинок ос-наездников, при этом токсин закодирован в геноме даже не самой бактерии, а ее симбионта – вируса-бактериофага (Oliver *et al.*, 2009).

Другие внутриклеточные бактерии-симбионты тлей – *рикетсии* и *спироплазмы* – повышают устойчивость этих насекомых к грибам из порядка *энтомофторовые*, представители которых в большинстве

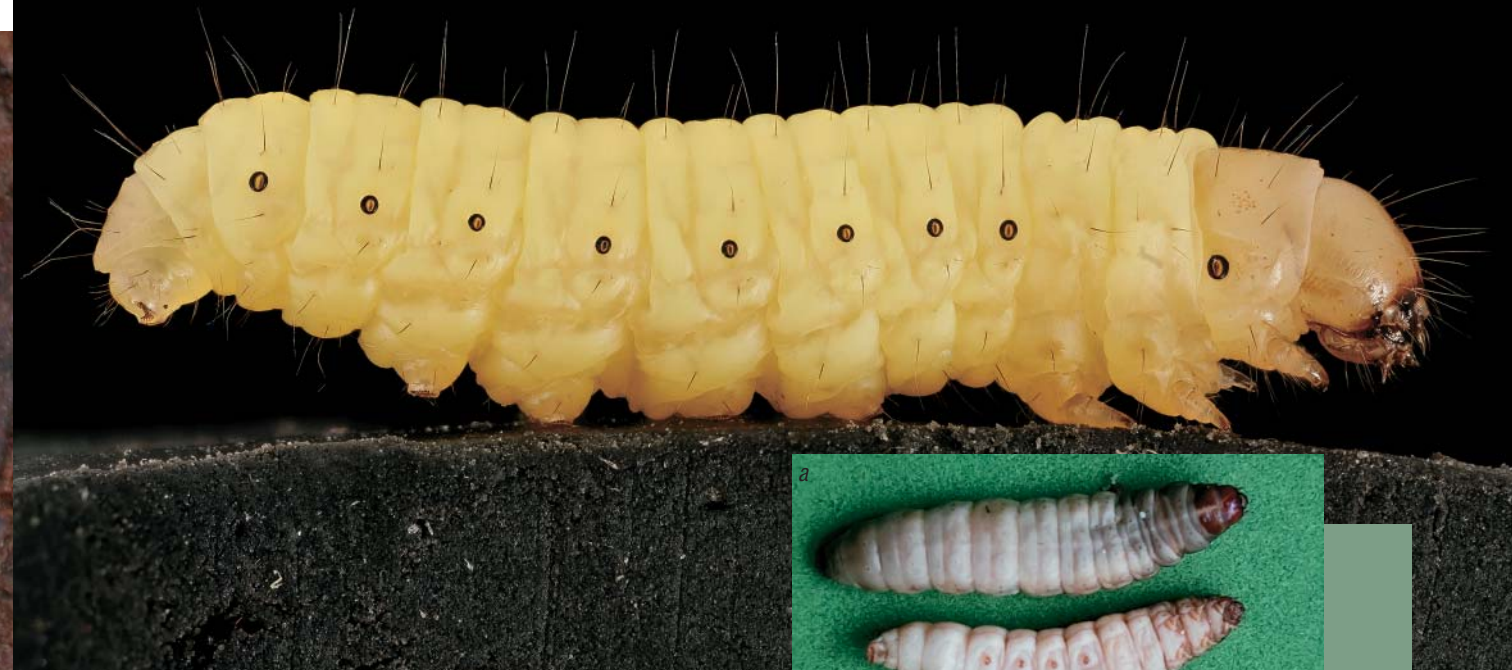


Вощинная огневка – вид молевидных бабочек из семейства настоящих огневок. Вверху – взрослая особь. © CC BY 2.0/ Andy Reago & Chrissy McClarren

Вощинная огневка, или большая восковая моль (*Galleria mellonella*), считается вредителем, при этом она обычно поселяется в уже брошенных ульях. Гусеницы этой бабочки являются популярным модельным объектом для изучения инфекционных болезней. Личинки активны в широком (19–42 °C) диапазоне температур, однако их температурный оптимум составляет 37 °C, что близко к температуре человеческого тела. Такие свойства позволяют моделировать на вощинной огневке развитие не только паразитарных болезней насекомых, но и различных бактериальных и грибных инфекций человека, вызванных такими патогенами, как сальмонеллы, клостридии, грибы рода кандиды и др. Этих насекомых относительно просто массово разводить, чтобы манипулировать с ними в условиях лаборатории

своим являются паразитами. При плохом исходе эти бактерии, по крайней мере, препятствуют размножению таких грибов на теле погибших насекомых (Lukasik *et al.*, 2013).

Еще один пример – антагонистические взаимоотношения, которые существуют между бактериями, живущими на кутикуле муравьев, и паразитическими грибами-аскомицетами, заражающими этих насекомых

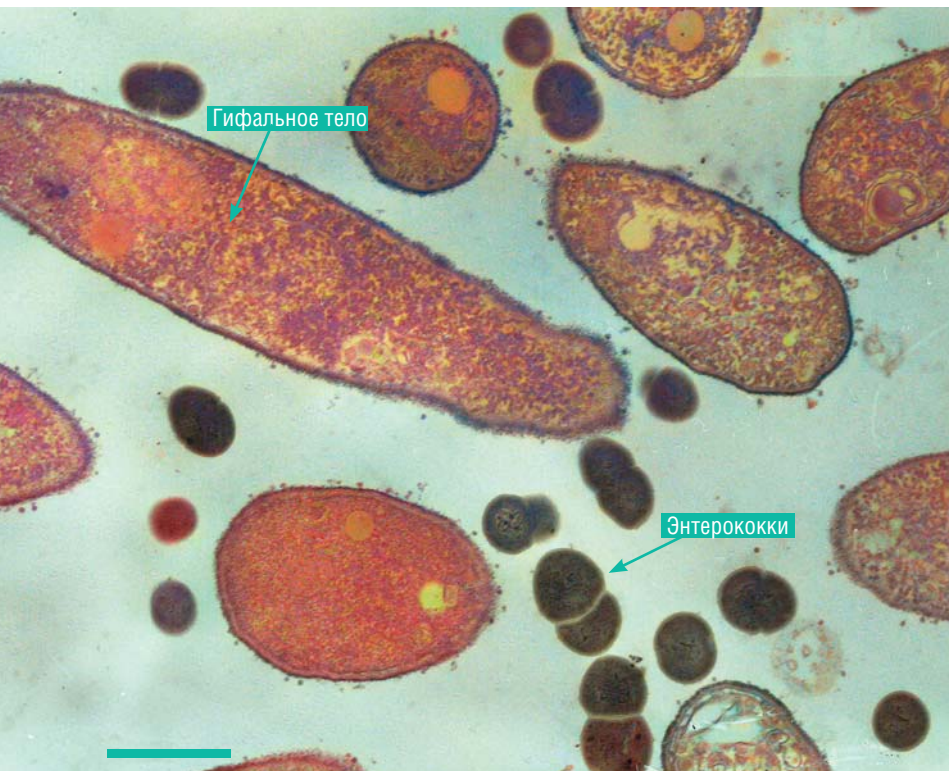


Гусеницы вощинной огневки достигают в длину до 1,8 см. Живут в ульях медоносных пчел, поедая мед, пергу и восковые соты. Public Domain

На фото:

- а – личинки вощинной огневки, зараженные энтомопатогенным грибом *Cordyceps militaris*;
- б – личинки, погибшие от инфекции, вызванной бактериями рода *Enterobacter* и *Enterococcus*;
- с – личинка, в полости тела которой развился энтомопатогенный гриб *Cordyceps farinosa* (на поверхности тела видны спороносящие выросты). Фото В. Крюкова





В гемолимфе личинки вошинной огневки с сочетанной инфекцией, вызванной грибом *Cordyceps militaris* и бактерией *Enterococcus faecalis*, можно увидеть грибные гифальные тела и бактериальные клетки. Электронная микроскопия. Фото А. Миллера. Редакционная ретушь цветом

через покровы. В экспериментах удаление бактериальных биопленок с кутикулы муравьев с помощью антибиотиков повышало восприимчивость насекомых к таким грибам (Masotto *et al.*, 2012).

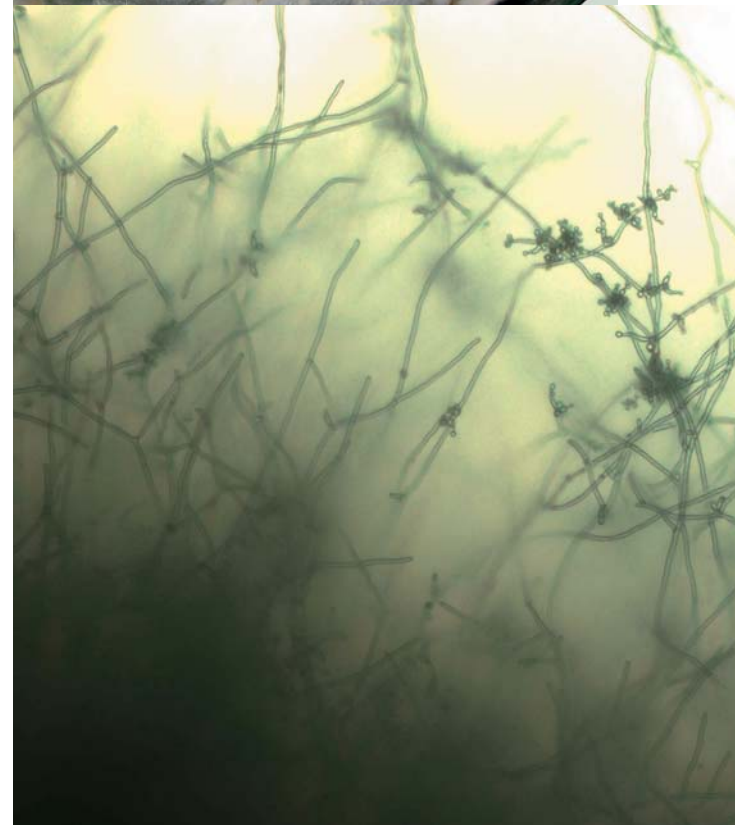
Но в некоторых случаях события развиваются по другому сценарию. При болезни, в том числе паразитарной, в организме насекомого происходят значительные перестройки в работе иммунной и других систем, сопровождаемые деструктивными изменениями в тканях, что может спровоцировать активное размножение некоторых микробов-симбионтов. Оказываясь в несвойственных им органах и тканях, многие в норме безвредные микроорганизмы, относящиеся к так называемой *оппортунистической* (условно-патогенной) микрофлоре, сами становятся болезнетворными. И это влияет на развитие паразитоза.

Так, когда широко распространенные паразитические грибы рода *Beauveria* проникают через кутикулу в полость тела малярийных комаров *Anopheles stephensi*, это приводит к ослаблению кишечного иммунитета насекомых. Из-за снижения продукции активированных кислородных метаболитов и антимикробных белков в кишечнике у комаров возникает *дисбактериоз*, сопровождаемый всплеском численности энтеробактерий рода *Serratia*. Бактерии проникают из кишечника в полость тела хозяина, что ускоряет развитие микоза и приводит комара к быстрой гибели (Wei *et al.*, 2017).

Сходную картину при заражении этим грибом можно наблюдать у *рыжего соснового лубоеда* (*Dendroctonus valens*), опасного вредителя хвойных, нападающего на ослабленные деревья. Проникающий через покровы гриб провоцирует в кишечнике личинок этого жука ускоренное размножение бактерий *эввиний*. Опыты по скормливанию этих бактерий «стерильным» личинкам показали, что их восприимчивость к паразитическому грибу при этом возрастает (Xu *et al.*, 2019). Аналогичные явления отмечены и в системе «непарный шелкопряд – кишечные симбионты – грибы *Beauveria*» (Bay *et al.*, 2023).

В последние годы появляются данные, что паразит может управлять микробиотой организма хозяина, чтобы предотвратить развитие оппортунистической микрофлоры. В его интересах, чтобы жертва как можно дольше оставалась живой и он мог успешно закончить свое развитие. А так как скорость размножения бактерий, составляющих основу микробиоты, значительно выше, чем тех же паразитических грибов или паразитоидов, то последним необходимо каким-то образом препятствовать росту численности микробов и их проникновению в полость тела хозяина. Этого можно достичь либо с помощью синтеза метаболитов, непосредственно подавляющих рост бактерий, либо путем модификации иммунитета хозяина (Fan *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2023).

Среди паразитических организмов отдельно выделяют паразитоидов, которые используют особую стратегию. Паразитоид в конечном итоге хоть и медленно, но всегда убивает своего хозяина, тогда как истинному паразиту такая смерть невыгодна



«Живые консервы» для ос-наездников

Долгое время считалось, что управлять иммунитетом зараженного насекомого могут только *эндопаразитоиды*, личинки которых живут внутри тела хозяина и непосредственно контактируют с его иммунной системой. Что касается *эктопаразитоидов*, развивающихся на покровах, то они в этом смысле изучены значительно слабее.

Уже упомянутые паразитические осы-наездники отличаются тем, что развитие их личинок может происходить как внутри, так и на поверхности их кормителя. При этом наездники способны манипулировать иммунитетом хозяина с помощью метаболитов, производимых либо самими взрослыми особями или личинками, либо их симбиотическими вирусами.

Вирусы, которые попадают в организм жертвы при откладке яиц, производят белки, воздействующие

Штамм Sar-31 гриба *Beauveria bassiana* – один из самых распространенных энтомопатогенов – используется для получения экспериментальных препаратов против насекомых-фитофагов. Выделен на юге Новосибирской области. Слева внизу – спороношение гриба. Световая микроскопия. Фото В. Крюкова





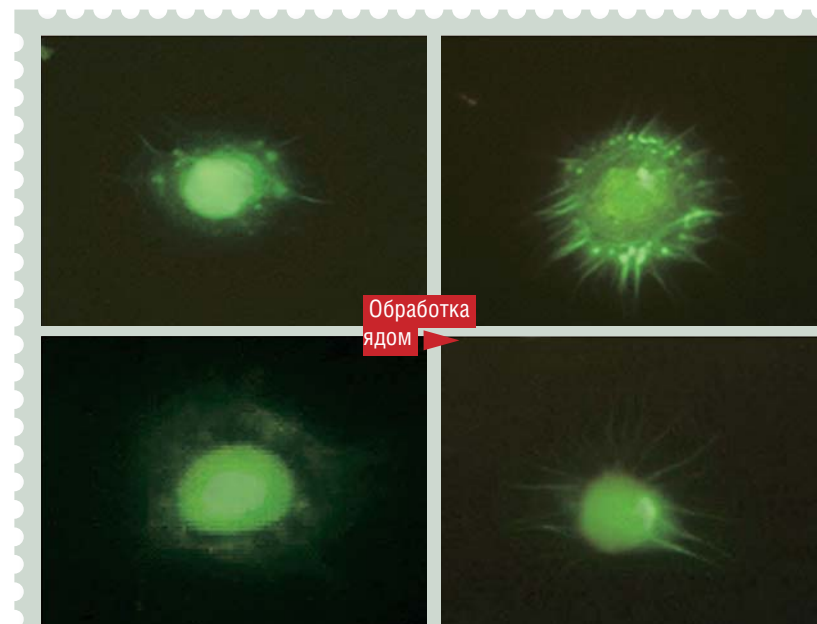
В семейство паразитических наездников Braconidae входит около 21 тыс. видов, среди которых есть экто- и эндопаразиты. Большинство представителей браконид считаются полезными, так как они паразитируют на насекомых, являющихся вредителями сельского и лесного хозяйства, и их часто используют для биологической борьбы с ними.

Взрослая особь паразитоидной миниатюрной (2,5 мм) осы-наездника *Habrobracon hebetor* живет в среднем до 20 дней. Самка, которая питается нектаром и гемолимфой насекомых, может отложить до 18 яиц в сутки. Хозяевами для личинок этого паразитоида являются чешуекрылые (преимущественно огневки), при этом самка способна обнаружить потенциальную жертву на расстоянии до полукилометра. Этот энтомофаг широко применяется для защиты культур открытого и закрытого грунта, а также в хранилищах зерна, сухофруктов и т. д. Считается, что для эффективной борьбы со многими видами вредителей достаточно выпустить на 1 га посевов 700–2000 взрослых особей *H. hebetor*.

Самка паразитоидной осы *Apechthis ontario* откладывает яйца в куколку вошинной огневки. 1962 г. Орегон, США. Public Domain/ R. Ryan



Оса-наездник из семейства Braconidae. © CC BY 2.0/ Katja Schulz



Паразитоид *Habrobracon hebetor* парализует ядом гусеницу вошинной огневки (*Galleria mellonella*, вверху). Из яиц, отложенных самкой рядом с жертвой, выходят личинки, которые начинают питаться гемолимфой обездвиженного, но живого насекомого. Фото В. Глупова

После обработки гемоцитов вошинной огневки ядом паразитической осы *H. hebetor* в них меняется структура актинового клеточного цитоскелета – в нем появляются стрессовые фибриллы и узелки. Флуоресцентная микроскопия. Фото Н. Крюковой

на иммунитет и физиологию хозяина, что значительно облегчает существование личинок паразитоидов. К такой стратегии прибегают преимущественно эндопаразитоиды.

Осы-эктопаразитоиды полагаются на другое оружие – яд, который вырабатывают и накапливают в специальных железах самки этих паразитических перепончатокрылых. С помощью яда они лишь парализуют свою жертву, но не убивают – так самка готовит для своего потомства своеобразные «живые консервы».

Компоненты яда способны менять многие физиологические процессы хозяина, в результате чего развитие жертвы останавливается, его иммунная система подавляется, а метаболизм синхронизируется с развитием личинок паразитоида. Однако подавление иммунитета может создать благоприятные условия для всплеска численности условно-патогенной микрофлоры. В этом случае финал у истории будет другой: хозяина настигнет преждевременная гибель, а вместе с ним умрет и будущее поколение паразита.



Габробракон – великий манипулятор

Чтобы оценить реакцию иммунитета насекомых на эктопаразитов, специалисты из новосибирского Института систематики и экологии животных СО РАН провели эксперименты на модели, которая включала паразитическую осу-наездника *габробракон хебетор* (*Habrobracon hebetor*), ее хозяина – *вощинную огневку*, или *большую восковую моль* (*Galleria mellonella*), и его симбиотическую микробиоту, а также различные виды энтомопатогенных грибов.

Самка габробракона сначала вводит своим жертвам (в данном случае – личинкам огневки) яд, а затем прикрепляет на них яйца, из которых выведутся личинки паразитоида. Последние питаются на поверхности тела личинок огневки, прогрызая кутикулу и высасывая их *гемолимфу* – заменитель крови и лимфы, циркулирующий в полости тела насекомого. Важно, что жертвы до конца своих дней остаются обездвиженными, но живыми. Оса же, как правило, заготавливает намного больше таких «консервов», чем требуется для откладки яиц.

Наблюдения показали, что парализованные личинки огневки редко погибают от спонтанных бактериозов, хотя после инфицирования у них происходит мощная вспышка размножения представителей их собственной микробиоты: *энтеробактерий* в кишечнике и *энтерококков* на кутикуле. Однако признаки бактериальной инфекции, свидетельствующие о попадании бактерий в полость тела, у них проявляются редко (Polenogova *et al.*, 2019; Kryukov *et al.*, 2022).

На теле крупной (около 12 см) гусеницы индонезийской бабочки-лапчатки видны коконы паразитической осы-наездника рода *Apanteles* из семейства браконид. © CC BY-SA 2.0/ gbohne

При этом у парализованных личинок огневки очень резко (в 5–500 тыс. раз!) повышается восприимчивость к паразитическим грибам родов *Beauveria* и *Metarhizium*. А вот к заражению менее опасными, условно-патогенными грибами (родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и др.) они оказываются невосприимчивы (Kryukov *et al.*, 2013, 2017, 2022).

Почему же парализованные личинки остаются устойчивыми к условным патогенам, но становятся очень восприимчивыми к более специализированным?

Оказывается, все дело в хорошей работе иммунитета в их кутикуле и кишечнике. Об этом можно судить, в частности, по увеличению синтеза антимикробных пептидов – соединений, нарушающих целостность клеточной стенки микроорганизмов (Polenogova *et al.*, 2019; Косман и др., неопуб. данные). Эти иммунные реакции могут эффективно препятствовать проникновению бактерий и других условных патогенов в полость тела хозяина, что не позволяет тому погибнуть прежде, чем паразитоид закончит свое развитие.



Деструкция жирового тела

Замедление циркуляции гемолимфы

Массовое размножение бактерий в кишечнике и на кутикуле

Подъем гуморального иммунитета

Изменение композиции поверхностных липидов

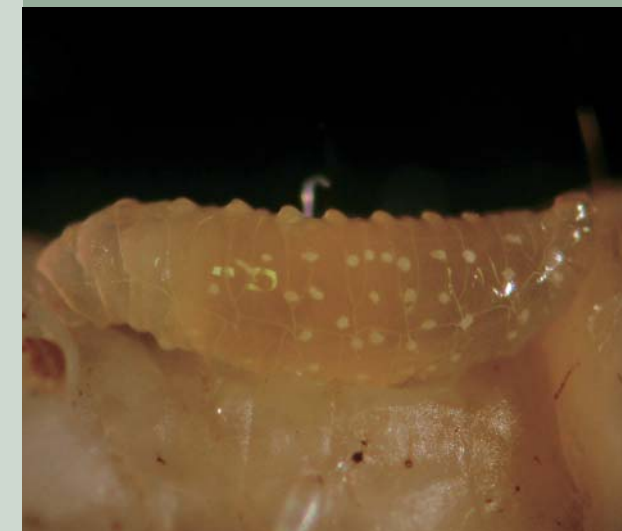
Снижение клеточного иммунитета

Защита от бактериальной инфекции

Защита от условных патогенов

Успешное развитие паразитических грибов

Успешное развитие паразитоида



После парализации личинки вощинной огневки ядом паразитоида *Habrobracon hebetor* в ее организме происходит ряд физиологических изменений, включая индукцию определенных иммунных реакций. С одной стороны, эти изменения предотвращают размножение условно-патогенных бактерий и грибов, поддерживая жизнеспособность парализованной особи. С другой стороны, они дают возможность паразитоиду (и более специализированным энтомопатогенным грибам) успешно завершить цикл развития.

Что касается более специализированных патогенов – грибов *Beauveria* и *Metarhizium*, то они умеют гораздо лучше справляться с иммунным отпором жертвы. К тому же под действием яда изменяется липидный состав кутикулы, снижается скорость циркуляции гемолимфы и адгезивная способность гемоцитов (Круиков *et al.*, 2018, 2022). Все это облегчает паразитическим грибам, способным усваивать специфические компоненты кутикулы насекомых, проникновение в тело личинки огневки.

Пока трудно сказать, чем именно стимулируется подъем иммунных реакций у парализованных личинок огневки: быстрым размножением собственной микробиоты или воздействием компонентов яда паразитоида. Независимо от причины мы видим, что обездвиженная жертва не просто служит источником пропитания для личинок ос, но и активно реагирует на размножение потенциально опасных микроорганизмов. Очевидно, что в данном случае иммунитет хозяина работает на пользу паразитоида либо специализированных грибов, давая им возможность пройти полный цикл развития с использованием ресурсов жертвы.

За сезон размножения самка колорадского жука может отложить до 500–1000 яиц, при этом в южных районах жук способен дать за лето 2–3 поколения.
© CC BY-NC 2.0/ Brad Smith

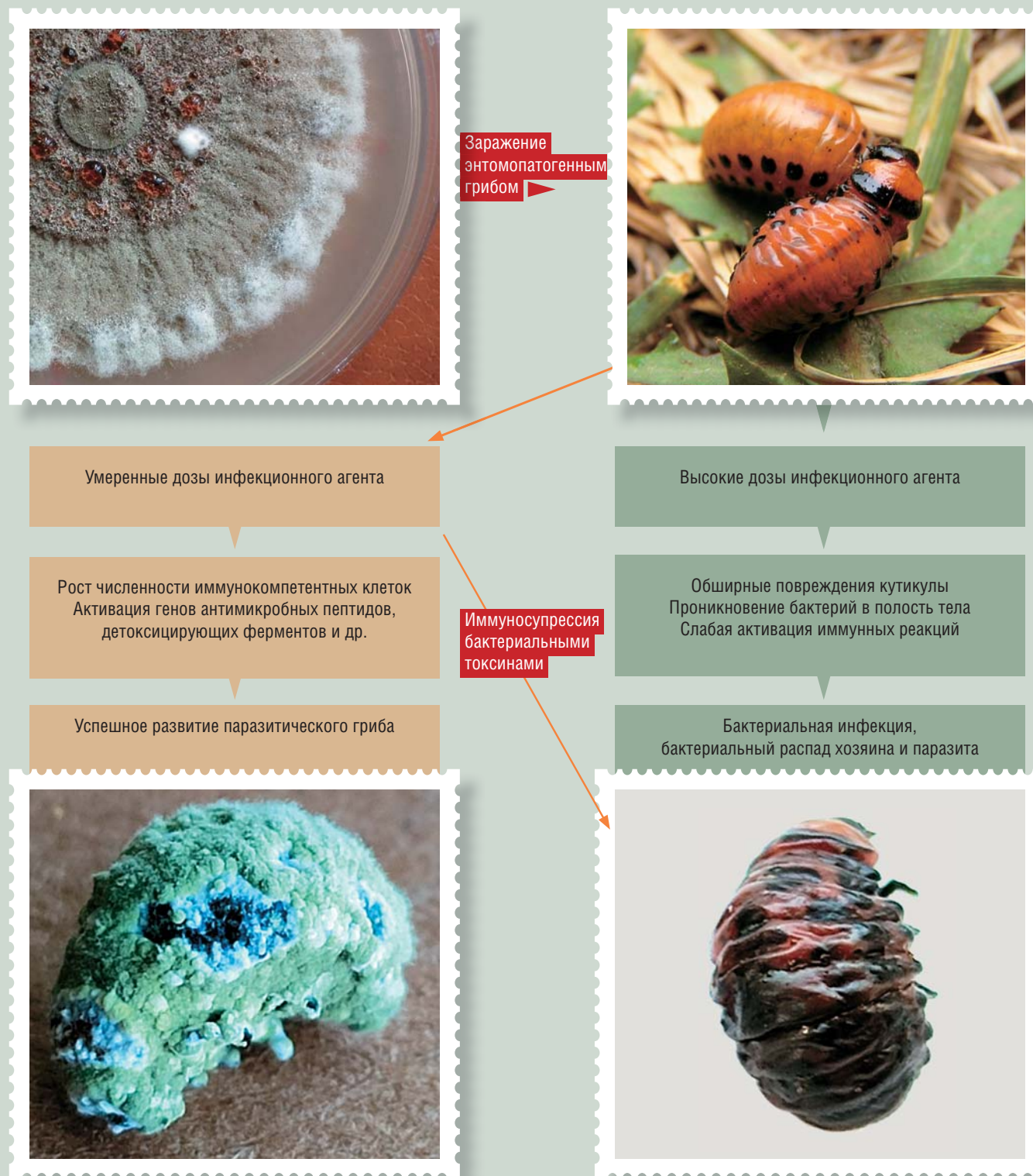


Колорадский жук – прокормитель грибов-паразитов

В другой серии экспериментов использовалась модель, которая включала личинок колорадского жука, его бактериальных сожителей, а также энтомопаразитарные грибы *Beauveria* и *Metarhizium*.

Для подавления реакций иммунитета у личинок в качестве иммуносупрессантов использовали *авермектины* – метаболиты почвенных актинобактерий *Streptomyces avermitilis*, или эндотоксины *тюрингской бациллы* (*Bacillus thuringiensis*). Как известно, авермектины широко применяются в качестве инсектицидов. Помимо нейротоксического действия они подавляют клеточный иммунитет, вызывают нарушения пищеварения и общее угнетение организма насекомого. Что касается эндотоксинов *B. thuringiensis*, то они повреждают эпителий кишечника, способствуя проникновению бактерий в полость тела.

После экспериментального заражения личинок жука умеренными дозами спор паразитических грибов микоз развивался по «классическому» сценарию: личинки погибали начиная с 6–7-х суток после заражения. При этом нити-*гифы*, составляющие вегетативное тело гриба, полностью заполняли полость тела личинок, образуя своего рода «грибницу», которая затем давала обильное спороношение на их покровах.



У личинок колорадского жука развитие «классического» микоза при заражении энтомопатогенным грибом идет при использовании не слишком высоких доз грибных спор. При чрезмерно высоких дозах инфекционного агента сценарий грибной инфекции меняется из-за подавления иммунных реакций организма хозяина и последующего бурного развития его бактерий-симбионтов. Похожий результат достигается в случае, если к обычным дозам грибных спор добавляют иммуносупрессоры

В ответ на заражение у организма хозяина на определенных этапах индуцировались такие иммунные реакции, как повышение общего числа гемоцитов и увеличение синтеза ферментов, связанных с инактивацией токсичных метаболитов. Также было отмечено усиление активности генов иммуносигнальных путей, в частности Toll (работает против грибов и грамположительных бактерий), IMD (преимущественно против граммотрицательных бактерий) и Jak-Stat (против вирусов, а также грибов и бактерий).

Однако когда эти реакции иммунитета были подавлены с помощью уже упомянутых иммуносупрессантов, то основная часть насекомых погибала намного раньше, причем с симптомами не микоза, а бактериального распада (Kryukov *et al.*, 2009; Tomilova *et al.*, 2016; Yaroslavlseva *et al.*, 2017).

Одна из причин такого исхода в том, что при прорастании грибов через кутикулу находящиеся там бактерии забрасываются непосредственно в полость тела личинок (Vey, Fargues, 1977). А поскольку бактерии размножаются быстрее грибов, то в случае гибели хозяина от бактериального заражения последние остаются в выигрыше. Так что иммунные реакции жертвы при «классическом» микозе, останавливающие бактериальную атаку, просто необходимы паразитам для нормального развития и завершения жизненного цикла.

Похожая картина на этой модели наблюдалась и при использовании чрезмерно высоких концентраций спор

энтмопатогенных грибов – в этом случае личинки жука также погибали с симптомами бактериальной инфекции в течение 3–5 суток после заражения.

При этом отмечались обширные деформации и повреждения кутикулы, резкое ослабление организма хозяина, снижение активности генов иммуносигнальных путей IMD и Jak-Stat. На этом фоне стремительно увеличивалась численность бактерий на покровах насекомого, а также в гемолимфе, что свидетельствует о проникновении бактерий в полость тела. При отсутствии выраженных иммунных реакций бактерии получали преимущество, что приводило к смерти хозяина и разложению его тканей. Так что и при этом сценарии паразитические грибы не могли завершить свой жизненный цикл (Kryukov *et al.*, 2024).

С этими результатами хорошо согласуются данные других авторов, полученные в последние годы. К примеру, установлено, что после заражения гусениц *хлонковой совки* (*Helicoverpa armigera*) грибом *Metarhizium rileyi* условно-патогенные бактерии из кишечника мигрируют в полость тела, где активно конкурируют с грибом за пищевые ресурсы хозяина (Wang *et al.*, 2023). Однако при этом у гусениц начинается активный

Особь паразитоидной осы, прошедшие полный цикл развития в куколке насекомого, выходят из своего погибшего хозяина. © CC BY-SA 2.0 / karen johns



Литература

Глунов В.В., Слепнева И.А. Оборону держат насекомые // НАУКА из первых рук. 2008. № 3 (21). С. 14–29.

Boucias D. G., Zhou Y., Huang S. *et al.* Microbiota in insect fungal pathology // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018. V. 102 (14). P. 5873–5888.

Engel P., Moran N. A. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function // FEMS Microbiol Rev. 2013. V. 37 (5). P. 699–735.

Kaltenpoth M., Engl T. Defensive microbial symbionts in Hymenoptera // Funct Ecol. 2014. V. 28. P. 315–327.

Stevens E. J., Bates K. A., King K. C. Host microbiota can facilitate pathogen infection // PLoS Pathog. 2021. V. 17 (5). P. e1009514.

Wang J. L., Sun J., Song Y. J. *et al.* An entomopathogenic fungus exploits its host humoral antibacterial immunity to minimize bacterial competition in the hemolymph // Microbiome. 2023. V. 11. P. 116.

синтез антибактериальных пептидов. Этот факт авторы связывают с вызванным грибом изменением гормональной регуляции, а также с тем, что в ответ на вторжение грибных и бактериальных патогенов вовлечен ряд общих рецепторов иммуносигнальных путей.

В целом полученные результаты говорят о том, что для «классического» сценария микоза дозы заражения должны быть умеренными, чтобы полностью задействовать иммунные реакции хозяина. Только в этом случае развитие паразита во вредителе пройдет успешно. Однако при использовании паразитических грибов в качестве биоинсектицидов для уничтожения вредителей в сжатые сроки необходимо применять иммуносупрессоры. Это позволит изменить ход патологического процесса в сторону комбинированной (*сочетанной*) инфекции, вызывающей скорую гибель.

Самка паразитоидной осы *Aphidius rhopalosiphii*. Представители рода *Aphidius* широко используются в программах биологической борьбы с тлями. © CC BY-SA 2.0 / Gilles San Martin

Таким образом, эксперименты на модельных системах наглядно показывают, что у насекомых взаимодействия между их микробными сообществами и паразитами могут быть как *антагонистическими* (когда симбионтные микробы усиливают устойчивость хозяев к паразитам), так и *синергистическими* (когда эти микробы вовлекаются в процесс патогенеза).

В последнем случае эти микроорганизмы оказываются в несвойственных им тканях организма насекомого, что осложняет течение паразитарной инфекции или даже меняет ее сценарий. При внезапном развитии бактериальной инфекции может погибнуть и хозяин, и паразит.

Однако насекомые, зараженные паразитическими грибами или паразитоидами, часто способны к активному иммунному ответу, который помогает избежать чрезмерного размножения бактерий и последующего разрушения органов и тканей хозяина. В этом случае иммунитет последнего, несомненно, работает в пользу паразитов, позволяя им успешно воспроизвести потомство.

Различные подходы к манипуляции иммунитетом насекомых – в сторону развития основного паразита либо оппортунистических инфекций – могут найти применение в биологическом контроле экономически значимых видов вредителей.

Работа поддержана РНФ (проекты № 22-14-00309 и 23-24-00259)