

УДК 76.895.122: 595.7

**ФИЗИОЛОГО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМИ
ГРИБАМИ (ASCOMYCOTA, HYPOCREALES) И НАСЕКОМЫМИ**

© 2020 г. В. Ю. Крюков^а, О. Н. Ярославцева^а*, В. В. Глухов^а

^аИнститут систематики и экологии животных СО РАН,

ул. Фрунзе, 11, Новосибирск, 630091 Россия

* e-mail: yarosl@inbox.ru

Поступила в редакцию 27.08.2020 г.

После доработки 17.10.2020 г.

Принята к публикации 20.10.2020 г.

В обзоре кратко обобщены сведения о факторах вирулентности энтомопатогенных аскомицетов и защитных реакциях насекомых-хозяев. Особое внимание уделено влиянию различных экологических факторов (температура, токсиканты, сопутствующие инфекции, симбиотические организмы и паразитоиды) на физиологические аспекты взаимоотношений между насекомыми-хозяевами и энтомопатогенными грибами. На основе проведенного анализа мы предполагаем, что длительные стрессирующие воздействия (такие как пониженные температуры, природные и синтетические токсиканты, бактериальные инфекции) приводят к подавлению большого комплекса клеточных и гуморальных защитных реакций, а также к онтогенетическим нарушениям у насекомых. Это может приводить к резкому повышению восприимчивости к энтомопатогенным грибам. Понимание данных механизмов имеет значение для развития новых подходов к биологическому контролю экономически значимых видов насекомых.

Ключевые слова: иммунитет насекомых, *Beauveria*, *Metarhizium*, система паразит-хозяин, экологические факторы

DOI: 10.31857/S1234567806060012

Энтомопатогенные аскомицеты среди паразитов насекомых

К настоящему времени паразитов рассматривают как неотъемлемую часть естественных экосистем, оказывающих большое влияние на их функционирование. Данная группа организмов зачастую играет решающую роль не только в динамике популяций и сообществ хозяев, но и в структуре пищевых цепей, внося значимый вклад в биомассу

и энергетический поток. Особое место среди паразитических организмов занимают паразитические грибы, в том числе поражающие насекомых.

В свою очередь насекомые представляют собой самую большую и разнообразную группу животных на Земле. Они также являются хозяевами или источниками питательных веществ для огромного количества паразитов, патогенов и хищников. Более 700 известных видов грибов адаптировались к жизни за счет насекомых (Roberts, Humber, 1981). За исключением основных высших базидиомицетов, паразитические виды встречаются в каждом основном таксономическом подразделении грибов и обитают почти во всех экосистемах. Наибольшее количество видов грибов, способных поражать насекомых, относится к порядку *Hypocreales* (Ascomycota, *Sordariomycetes*). Среди представителей *Hypocreales* патогенность по отношению к насекомым – довольно древний признак, о чём свидетельствуют окаменелости в янтаре раннего мелового периода (в пределах 98–112 миллионов лет назад) (Sung et al., 2008). Считается, что возникновение энтомопатогенности среди грибов приходится на период адаптации насекомых к покрытосеменным растениям (Sung et al., 2008).

В силу того, что паразитические аскомицеты широко распространены в природе и активно используются в производстве биологических препаратов, то в данном обзоре мы остановимся на взаимоотношениях грибов именно этой таксономической группы и насекомых различных отрядов. Эволюция этих организмов привела к существованию групп с разными типами размножения. В частности, телеоморфных грибов, в жизненном цикле которых всегда присутствует половая стадия, и анаморфных, у которых данная стадия образуется крайне редко и локально либо полностью утрачена. Последних ранее относили к формальному отделу *Deuteromycota* (= *Anamorphic fungi*). В настоящее время широкое использование молекулярно-генетических методов приводит к таксономическому объединению анаморфных и телеоморфных видов и родов (Sung et al., 2007; Kepler et al., 2017). Однако эти две группы грибов демонстрируют значительные различия в их экологии. В частности, для анаморфных форм (*Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria* и др.) характерны широкий спектр насекомых-хозяев, космополитическое распространение, эвритопность, факультативно-сапротрофное питание, возможность развития в ризосфере или внутренних тканях растений (Vega, 2018). Напротив, телеоморфные грибы (*Cordyceps*, *Ophiocordyceps* и др.), как правило, stenotопны, имеют ограниченный спектр хозяев, локальное распространение, характеризуются более сложными, длительными жизненными циклами и облигатным паразитизмом. Подавляющее большинство работ по физиологии паразит-хозяинных отношений выполнено на анаморфных грибах *Beauveria* и *Metarhizium*.

Энтомопатогенные аскомицеты известны с первой половины XVIII в. и являются первыми описанными в литературе энтомопатогенными организмами (Коваль, 1984).

Микозы, вызываемые аскомицетами, часто встречаются в популяциях насекомых самых разных отрядов, вызывая их гибель на энзоотическом или эпизоотическом уровнях. Однако использование энтомопатогенных аскомицетов в качестве продуцентов биопрепаратов встречает ряд трудностей, связанных с нестабильной эффективностью. Это обусловлено существенной зависимостью выживаемости пропагул грибов от факторов внешней среды, а также от физиологического состояния насекомых хозяев. Поэтому для понимания взаимоотношений в исследуемых паразит-хозяинных системах необходим анализ механизмов вирулентности грибов, защитных систем хозяев, а также влияния средовых факторов на физиологию обоих звеньев системы.

Этапы патогенеза и факторы вирулентности грибов

Инфицирование грибами насекомых может происходить через различные участки тела. Для некоторых грибов может наблюдаться определённая органотропная приуроченность. Энтомопатогенные грибы являются единственными микроорганизмами насекомых, способными инфицировать хозяев через поверхностные структуры, за счет адгезии к кутикуле и последующего проникновения через этот барьер (Борисов и др., 2001; Thomas, Read, 2007). Возможность грибковой пероральной инфекции была также описана в ряде работ, однако этот способ проникновения исследован слабо (обзор: Mannino et al., 2019). С появлением новых технологий секвенирования стали доступны геномы основных энтомопатогенных грибов и было описано много грибных генов, потенциально способных обеспечить оральную инфекцию. Среди грибов, геномы которых были секвенированы, *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill имеет большое количество сходных генов с не грибными патогенами, в частности с бактериями *Bacillus thuringiensis* Berliner, способными синтезировать внутриклеточный дельта эндотоксин и вызывать кишечные токсикозы у насекомых (Mannino et al., 2019).

Инфицирование насекомых грибами можно условно разделить на несколько этапов, первый – это адгезия конидий к поверхности кутикулы. Адгезия происходит за счёт неспецифических гидрофобных и электростатических взаимодействий между кутикулой насекомого и конидиями. Вклад в прикрепление конидий к кутикулярной поверхности могут внести неровности, шероховатости и различные выросты кутикулы. Хотя определяющим является химический состав верхнего слоя, то есть кутикулина, как части эпикутикулы (Vega et al., 2012). Большое значение в формировании гидрофобных связей между конидиями и кутикулой играют неполярные липиды: жирные кислоты, длинноцепочечные углеводороды и воска (восковые эфиры) кутикулина (Pedrini et al., 2007). На адгезию конидий к кутикуле могут оказывать существенное влияние ряд белков грибов. Например, у грибов *Metarhizium* имеются адгезин-подобные белки Mad1 и Mad2, играющие существенную роль при патогенезе насекомых, а также при

взаимодействии с ризосферой растений (Barelli et al., 2011). Данные небольшие белки (молекулярная масса менее 20 kDa) могут играть определяющую роль в вирулентности грибов (Sevim et al., 2012; Jiang et al., 2020). Энтомопатогенные аскомицеты могут экспрессировать два класса гидрофобов (HYD), которые могут играть различную роль в адгезии и последующем развитии этих грибов (Wosten, 2001; Bayry et al., 2012). Кроме того, гидрофобовые белки могут модулировать иммунные реакции организма хозяина. Среди энтомопатогенных грибов гидрофобовые белки MacHYD3, локализованные на поверхности конидий *Metarhizium acridium* (Driver & Milner) J.F. Bisch., Rehner & Humber могут активировать как гуморальный, так и клеточный иммунитет саранчи *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) (Jiang et al., 2020). Также в клеточных стенках конидий энтомопатогенных грибов имеются негидрофобные белки, в частности у *Metarhizium* CPW10, участвующие во взаимодействии конидий с поверхностными структурами кутикулы насекомых (Li et al., 2010).

После адгезии грибов на поверхности кутикулы начинается этап дифференциации инфекционных структур – формирования ростковых трубок и аппрессориев. Значительную роль в этих процессах играет липидный обмен грибов, зависящий от композиционного состава углеводов и жирных кислот эпикутикулы (Ortiz-Urquiza, Keyhani, 2013; Keyhani, 2018). Насекомые с преобладанием насыщенных (линейных или разветвленных) углеводов в эпикутикуле обычно более чувствительны к грибам, по сравнению с насекомыми, у которых преобладают ненасыщенные углеводороды (Pedrini et al., 2007). Углеводороды являются важным питательным источником для энтомопатогенных грибов. Например, виды *Metarhizium* утилизируют насыщенные линейные и разветвленные углеводороды (Napolitano, Juarez, 1997), что способствует успешному формированию ростковых трубок и аппрессориев и в итоге усиливает вирулентность (Jarrold et al., 2007; Lin et al., 2011). Удаление углеводов с кутикулы насекомых с помощью растворителей (н-гексан, пентан) приводит к ингибированию прорастания конидий грибов. Жирные кислоты, как правило, демонстрируют фунгистатический эффект, при этом они также могут оказывать влияние на продукцию гидролитических ферментов грибов и дифференциацию инфекционных структур (Ment et al., 2013; Wronska et al., 2018). Помимо углеводов и жирных кислот в кутикуле насекомых могут детектироваться бензохиноны (и другие альдегиды и кетоны), жирные спирты, терпены и другие вещества, которые ингибируют прорастание энтомопатогенов (Pedrini et al., 2018).

При формировании указанных инфекционных структур и проникновении через кутикулу грибы начинают выделять различные ферменты, гидролизующие кутикулярные слои, а также токсины. Среди гидролизующих белков стоит отметить группу ферментов: комплекс цитохромов P450, эндохитиназы и протеазы. Цитохром

P450-зависимые монооксигеназы грибов участвуют в деградации углеводов и жирных кислот насекомых. Так, ряд генов цитохрома P450 был охарактеризован для грибов *B. bassiana* (CYP52X1) (Zhang et al., 2012) и *Metarhizium robertsii* J.F. Bisch., S.A. Rehner & Humber (CYP52X2) (Lin et al., 2011). Мутанты с нефункционирующими генами CYP52X1 теряют вирулентность при топикальном заражении насекомых, но сохраняют ее при инъекциях грибов в гемоцель (Zhang et al., 2012), что доказывает важность монооксигеназ при развитии грибов на/в кутикуле. Эндохитиназы действуют непосредственно на хитин, один из основных компонентов кутикулы насекомых. Например, *M. anisopliae* имеет эндохитиназы, кодируемые генами Chit1 (Anwar et al., 2019). Протеазы разрушают белки кутикулы, в первую очередь прокутикулы (St. Leger et al., 1995; 1996; Dhar et al., 2010). В частности, субтилизины семейства Pr1 могут иметь ключевое значение во время проникновения гриба через кутикулу и определять вирулентность видов *Metarhizium* и *Beauveria*. Отметим, что виды грибов с широким кругом хозяев обладают большими спектрами протеаз, липаз, монооксигеназ и других ферментов по сравнению со специализированными видами (Zheng et al., 2011; Xiao et al., 2012; Hu et al., 2014). Ферменты действуют в сочетании с механическим давлением гриба на кутикулу. Показано, что ослабление тургорного давления у *M. robertsii* путем удаления гена MgHex1, связанного с функционированием гифальных септ, приводит к нарушениям в формировании аппрессориев и падению вирулентности при кутикулярном инфицировании насекомых, но не при инъектировании (Tang et al., 2020).

После проникновения через кутикулу в гемоцель развитие грибов происходит в форме гифальных тел. В целях предотвращения действия защитных систем организма, а также действия осмотического давления внутри гемоцеля некоторые грибы экспрессируют ряд генов, отвечающих за синтез осмосенсоров Mos1 (Wang et al., 2008) или кодирующих белок защитного покрытия (Mcl1) (Wang, St Leger, 2006). Эффективное поглощение питательных веществ даёт возможность паразитическим грибам быстро увеличивать собственную массу внутри хозяина. В организме насекомых большую роль в успешном развитии гриба начинают играть вторичные метаболиты энтомопатогенов, влияя на выживаемость грибов и на активность физиологических систем организма насекомых (Charnley, 2003; Molnar et al., 2010; Donzelli, Krasnoff, 2016). Причём стоит отметить, что грибы могут продуцировать большое количество вторичных метаболитов, способных влиять на различные физиологические процессы хозяев, ингибировать иммунные реакции, менять поведение насекомых. Например, деструксины (циклические пептидные токсины) *Metarhizium* вызывают нарушение работы кальциевых каналов, функций цитоскелета и вызывают апоптоз гемоцитов, что приводит к значительной супрессии фагоцитоза и инкапсуляции (Charnley, 2003; Wang et al., 2012; Lu, St Leger, 2016). Кроме того, декструксины способны ингибировать синтез антимикробных пеп-

тидов, оказывать влияние на экспрессию ингибиторов сериновых протеиназ, подавлять меланизацию и влиять на уровень экспрессии генов, кодирующих антиоксидантные ферменты хозяина (Pal et al., 2007; Han et al., 2013). Однако вклад деструксинов в вирулентность грибов *Metarhizium* остается дискуссионным. В недавних работах было показано, что уровень продукции деструксинов в хозяевах при патогенезах намного ниже доз, необходимых для парализации и гибели хозяев (Rios-Moreno et al., 2017). Ряд авторов регистрировал положительную корреляцию между продукцией деструксинов и уровнем вирулентности по отношению к саранчовым и чешуекрылым (Kershaw et al., 1999; Wang et al., 2012), тогда как другие (Donzelli et al., 2012) показали, что генный нокаут синтеза деструксинов в *M. robertsii* не приводит к снижению вирулентности по отношению к *Spodoptera exigua* (Hbn), *Galleria mellonella* L. и *Tenebrio molitor* L., по сравнению с исходным штаммом. Ряд вторичных метаболитов, по всей видимости, служит для подавления конкурентной бактериальной флоры при развитии микозов. Например, установлено, что ооспореин *B. bassiana* действует как антибактериальный компонент на конечных стадиях развития микоза в вошинной огневке, позволяя грибу максимально использовать ткани хозяина и затем спорулировать на его поверхности (Fan et al., 2017).

После колонизации тела хозяина гифальными телами в гемоцеле образуется склеротий (плотное скопление мицелия), а затем наблюдается обратный рост гиф и формирование дочернего спорония в виде конидий (для анаморфных форм) или стром с перитециями (для телеоморфных форм) на поверхности хозяина. Интересно, что данный процесс не всегда может быть реализован. Многие генетические дерегуляции могут приводить к нарушению формирования дочернего спорония и бактериальному распаду трупов (Huang et al., 2015; Fan et al., 2017; Kryukov et al., 2019; Xie et al., 2019). Вероятно, формирование мицелия и спор на погибших от грибной инфекции насекомых, – весьма деликатный процесс, который зависит от многих генетических изменений у грибных патогенов.

Иммунный ответ хозяина

При проникновении через кутикулу и формировании гифальных тел в гемоцеле грибы сталкиваются с иммунной системой насекомых, с гуморальной и клеточной. Эти две системы действуют синхронно, обеспечивая достаточно высокий уровень защиты организма. В первую очередь стоит отметить, что в составе грибных стенок присутствуют компоненты, содержащие β -1,3-гликаны, которые представляют собой паттерны, способные модулировать иммунный ответ насекомых (Hillyer, 2016; Chen, Lu, 2018). Так, β -1,3-гликаны могут связываться β -1,3-гликан распознающими белками (β GRP), также известными как грам-негативные связывающие белки (GNBP), что

приводит к активации профенолоксидазного (ПФО) каскада и синтеза антимикробных пептидов (АМП). В *Drosophila melanogaster* Meigen β -1,3-гликаны распознаются GGBP-3, которые запускают активацию Toll пути (Hoffmann, 2003; Gottar et al., 2006). Считается, что экспрессия АМП, таких как цекропины A1, дрозомидины, мечниковины и др., индуцирует защиту против грибной инфекции. У тутового шелкопряда *Bombyx mori* L. имеется четыре β GRP (Tanaka et al., 2008), которые играют важную роль в активации ПФО, в частности β GRP-1 и β GRP-2 связываются с β -1,3-гликаном и вовлекаются в активацию ПФО каскада (Chen, Lu, 2018). β GRP-1 шелкопряда имеет β -1,3-гликан-связывающий домен и глюконаза-подобный домен. Расщепление этого белка хемотрипсином даёт два фрагмента, один с молекулярным весом 20 kDa связывает β -1,3-гликаны, другой 43 kDa, представляющий собой глюконазо-подобный домен, способен активировать ПФО каскада. Истощение β GRP-1 в плазме приводит к существенному снижению активации ПФО каскада гликанами, но восстанавливается при добавлении рекомбинантного β GRP-3, т.е. в активации ПФО каскада принимают участие как β GRP-1, так и β GRP-3 за счёт распознавания β -1,3-гликанов. В результате транскриптомного анализа было установлено, что во время микоза тутового шелкопряда, вызванного энтомопатогенным грибом *B. bassiana*, происходит экспрессия основных генов иммунитета, включая гены, кодирующие морицин, цекропин B, убиквитин, лизоцим и предшественник β GRP (Chen, Lu, 2018). Отметим, что экспрессия АМП при микозах может предотвращать вторичные инфекции, в первую очередь, бактериальные. При взаимодействии АМП с грибами в гемолимфу может выбрасываться определённое количество веществ, входящих в состав грибных стенок, которые, в свою очередь, будут обладать иммуномодулирующими свойствами.

Большую роль в защите организма насекомых от грибной инфекции играют активированные кислородные метаболиты (АКМ), в том числе свободные радикалы различной природы, при этом ключевую роль играют полухиноновые радикалы (Slepneva et al., 1999). Так, с помощью ЭПР-спектроскопии с использованием спиновых ловушек мы напрямую зарегистрировали генерацию полухиноновых радикалов в гемолимфе гусениц сибирского шелкопряда *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv. и вошинной огнёвки *G. mellonella* (Slepneva et al., 1999). Причём при остром микозе, вызванном грибом *M. anisopliae* s. l., у личинок *G. mellonella* отмечалось существенное снижение количества образующихся полухиноновых радикалов, как и фенолоксидазной активности в гемолимфе (Slepneva et al., 2003). В результате взаимодействия полухиноновых радикалов с кислородом образуется перекись водорода, которая обладает цитотоксичной активностью, в том числе по отношению к патогенным микроорганизмам (Komafov et al., 2005). Полухиноновые радикалы и радикалы аскорбиновой кислоты были обнаружены с помощью ЭПР-спектроскопии в кишечнике гусениц волнянки *Orgyia*

leucostigma (Smith) и кольчатого шелкопряда *Malacosoma disstria* Hbn. (Barbehenn et al., 2003). Причём тип радикала определялся качеством корма. Кроме того, в гемоцитах насекомых может образовываться оксид азота (монооксид), обладающий высокореакционной активностью (Semenova et al., 2014), в том числе цитотоксичной, и способный влиять на активность фенолоксидаз, в то же время повышая продукцию ДОПА-хрома в гемолимфе насекомых (Sanzhaeva et al., 2016). В кишечнике ряда насекомых пероксидаза опосредует окисление танинов, потом образуется пероксид водорода, а затем в результате взаимодействия пероксида с железом, которое регистрируется в большом количестве в листьях, образуются цитотоксичные радикалы (реакция Фентона) (Barbehenn et al., 2005; Barbehenn, Constabel, 2011). При этом мы можем предположить, что антимикробные пептиды, экспрессируемые в организме при микозах, способны усиливать действие различных активированных кислородных метаболитов.

Выброс большого количества свободных радикалов, как и АКМ, может вызвать окислительный стресс организма (Lushchak, 2014; Forman, 2016). В связи с этим в любом организме, в том числе у насекомых, существует достаточно мощная антиоксидантная система. Эта система представлена комплексом ферментов и неферментных соединений, способных элиминировать высокореакционные продукты. Кроме того, немаловажное значение будет иметь детоксицирующая система, которая будет взаимодействовать с продуктами, которые образуются при различных воздействиях на организм, в том числе при окислительном стрессе и при патологических изменениях.

Мы установили, что развитие микозов у насекомых сопровождается резким увеличением активности ферментов, участвующих в процессах деградации и детоксикации ксенобиотиков различного происхождения. В частности, нами показано, что инфицирование энтомопатогенными грибами гусениц вошинной огневки приводит к изменению спектра и активности глутатион-S-трансфераз, неспецифических эстераз, кислых и щелочных фосфатаз. Изменение активности данных ферментов является неспецифической реакцией организма насекомых и обуславливается повреждением покровных тканей или интоксикацией организма (Serebrov et al., 2001). По-видимому, повышение активности детоксицирующих ферментов при микозах и других инфекциях – это ответная реакция насекомого на интоксикацию организма токсичными метаболитами патогена или продуктами распада тканей хозяина. Подтверждением участия индуцибельных ферментов в детоксикационных процессах может служить снижение чувствительности гусениц пчелиной огневки к химическому инсектициду малатиону, в детоксикации которого могут участвовать все изученные нами ферментные системы (Serebrov et al., 2003). Следствием данных изменений является повышение адаптационных возможностей организма насекомых, в частности снижение их чувствительности к химическим инсектицидам. С другой стороны, ингибирование детоксицирующих ферментов резко увеличивает гибель насекомых от грибной инфекции (Serebrov et al., 2006), что служит косвенным доказательством участия детоксицирующих ферментов при формировании

резистентности насекомых к энтомопатогенным грибам, а также открывает новые возможности для создания эффективных комбинированных биопрепаратов на основе энтомопатогенных грибов и ингибиторов детоксицирующих ферментов.

Ключевую роль в защите насекомых от грибов выполняет клеточный иммунный ответ. В первую очередь стоит отметить инкапсуляцию. На первом этапе инкапсуляции гемоциты взаимодействуют с поверхностными структурами грибных паразитов, затем вокруг гифальных тел начинает формироваться многослойная капсула (Chouvenc et al., 2009). При этом внутренние слои гемоцитов разрушаются, в результате выбрасывается большое количество гидролитических ферментов, а также активируется профенолоксидазный каскад. Инкапсуляция тесно связана с процессом меланизации и выбросом АКМ, которые возможно способны уничтожать гифальные тела (Slepneva et al., 2003; Komarov et al., 2005; Semenova et al., 2014). При этом известно, что грибы способны выживать внутри данных капсул и выходить из них за счет действия гидролитических ферментов и продукции токсинов (Wang et al., 2012; Feng et al., 2015). Выживание грибов в меланотической капсуле также вероятно может происходить за счёт повышенной экспрессии грибами антиоксидантных ферментов, которые в природной среде активно защищают грибы от внешних факторов, в первую очередь от ультрафиолетового излучения (Xie et al., 2012; Zhang, Feng, 2018). По всей видимости, инкапсуляция является эффективным механизмом инактивации грибов при инфицировании низкими дозами или слабовирулентными штаммами и может приводить либо к остановке патогенеза, либо переходу микоза в персистирующее состояние в организме хозяина (Chouvenc et al., 2009; Kryukov et al., 2018a).

К настоящему времени появляются работы по так называемому патогенному праймированию (priming of pathogen resistance) организма хозяина. Суть его заключается в том, что предварительное инфицирование насекомых сублетальными дозами патогена приводит к повышению устойчивости к более высоким дозам (в некоторых случаях к смертельным дозам) (Mikolant et al., 2014). Эти авторы считают, что это обусловлено повышенной генерацией АКМ в организме насекомых, хотя до конца механизм этого явления не ясен. По нашему мнению, здесь играют ключевую роль не только радикалы, но и детоксицирующие и антиоксидантные ферменты, уровень и активность которых может меняться при сублетальных воздействиях микроорганизмов на насекомых.

Влияние экологических факторов на физиологические взаимодействия между энтомопатогенными грибами и насекомыми

Успешное развитие грибов в организме насекомых в значительной степени зависит от физиологического состояния хозяев. Вероятно, что в естественных условиях энтомопатогенные аскомицеты наиболее часто поражают насекомых, ослабленных различными стрессовыми воздействиями (Boomsma et al., 2014). Для заражения

насекомых чаще всего необходимы высокие дозы конидий грибов – десятки и сотни тысяч конидий на одну особь (Jaronski, 2010; Ment et al., 2010; Kryukov et al., 2018b). Однако под действием различных стрессирующих факторов или сопутствующих инфекций может происходить многократное повышение чувствительности к грибам и для развития микоза становятся достаточными низкие дозы. В других случаях, напротив, воздействие стрессов или присутствие тех или иных микроорганизмов в хозяине приводит к повышению устойчивости к грибным патогенам. Ниже рассмотрим наиболее хорошо изученные факторы, такие как субоптимальные температуры, токсиканты, сопутствующие инфекции и паразитоиды.

Фактор температуры

Температура – важнейший фактор, влияющий на развитие грибных патогенозов у насекомых. Развитие и исход микоза зависят от двух составляющих – температурного оптимума (и лимитов роста) самого патогена и функционирования защитных систем хозяина. Оптимумы роста большинства энтомопатогенных аскомицетов находятся в диапазоне 20–30 °C с лимитами 8–35 °C, но эти показатели значительно варьируют как у разных видов, так и у разных изолятов в пределах вида (обзор: Vidal, Fargues, 2007). Значение температурной биологии хозяина в развитии грибных болезней экспериментально изучалось преимущественно на моделях с использованием грибов из родов *Metarhizium* и *Beauveria*, а данные, касающиеся более специализированных телеоморфных грибов, практически отсутствуют. В большинстве случаев длительное или кратковременное повышение температуры приводит к повышению клеточного и гуморального иммунитета и, соответственно, повышению устойчивости к энтомопатогенным грибам (Zibae et al., 2009; Fuller et al., 2011; Catalan et al., 2012; Kryukov et al., 2018a, b; Shamakhi et al., 2019), хотя кратковременный холодовой стресс может также активировать антигрибные защитные системы (Mowlds, Kavanagh, 2008). Напротив, в условиях постоянной пониженной температуры восприимчивость к грибам чаще всего возрастает. Например, ограничение поведенческой терморегуляции у саранчовых приводило к их повышенной восприимчивости к *M. acridum* и *B. bassiana* (Blanford, Thomas, 2001). Ограничение терморегуляции у *Locusta migratoria* L. приводило к более резкому подавлению клеточного иммунитета грибом *M. acridum* по сравнению с особями, у которых была возможность регулировать температуру (Ouedraogo et al., 2003). Для личинок вошинной огневки показано, что снижение температуры от оптимальной (35 °C) до субоптимальной (25 °C) приводит к усилению восприимчивости к грибу *M. robertsii* в 10 раз (Kryukov et al., 2018b). При понижении температуры у огневки изменялось соотношение эпикутикулярных жирных кислот, нарушались механизмы антигрибной защиты, связанные с активностью фенолоксидаз и уровнем инкапсуляции. Фаллер с соавторами (Fuller et al., 2011) показали на термитах *Nasutitermes acajutlae*

(Holmgren), что температура их гнезд позитивно коррелирует с уровнем фенолоксидазной активности и негативно коррелирует с уровнем восприимчивости к грибу *M. anisopliae*.

Отдельного внимания заслуживает восприимчивость к грибам в состоянии холодной диапаузы. Во время этой диапаузы иммунитет насекомых продолжает работать (Nakamura et al., 2011), все же данное состояние, по-видимому, является благоприятным для развития микозов. Так, у сверчка *Gryllus veletis* Alexander & Bigelow во время зимней диапаузы наблюдается снижение уровня меланизации и возрастание восприимчивости к *M. anisopliae* (Ferguson et al., 2018). У личинок *Eurosta solidagnis* (Fitch) в условиях зимней диапаузы устойчивость грибу *Metarhizium brunneum* Petch была сниженной по сравнению с насекомыми, собранными весной и осенью, хотя у *Curculio* sp. наибольшая восприимчивость регистрировалась в осенний период, что также было ассоциировано с низким уровнем меланизации (Ferguson, Sinclair, 2017).

Нами проведена серия экспериментов на личинках воцинной огневки, зараженных грибом с ограниченной специализацией *Cordyceps militaris* (L.) Fr. (Kryukov et al., 2018a, 2020). Эксперименты проводились при 25 °C (активное состояние насекомых) и 15 °C (факультативная диапауза). Личинки были весьма чувствительны к грибу в состоянии диапаузы, тогда как в активном состоянии они были способны «выздоровливать» и успешно завершать метаморфоз. В активном состоянии (25 °C) мы наблюдали повышение уровня фенолоксидаз и инкапсуляции в ответ на инфекцию, тогда как в состоянии диапаузы (15 °C), напротив, регистрировалось падение этих параметров иммунитета (Kryukov et al., 2018a). Кроме того, при высокой температуре регистрировался более высокий подъем экспрессии антигрибных пептидов галиомицина и галлеримицина (Kryukov et al., 2020). Интересно, что в активном состоянии личинок (25 °C) инфекция переходила в персистирующую форму, но могла быть активирована в стадии куколки или имаго, особенно при помещении насекомых в холодные условия (Kryukov et al., 2018a). Мы предположили, что грибы с ограниченной специализацией такие как *C. militaris* имеют менее развитые механизмы управления иммунитетом хозяев по сравнению *Metarhizium* и *Beauveria*, что соотносится с полногеномными исследованиями этих групп грибов (Zheng et al., 2011; Xiao et al., 2012). Возможно, телеоморфные грибы приспособлены к развитию в хозяевах, находящихся именно в стадии диапаузы.

Воздействие токсикантов

Воздействие синтетических или природных инсектицидов, как правило, приводит к усилению восприимчивости насекомых к энтомопатогенным грибам на уровне аддитивного или синергистического эффектов. Причиной этого является ряд изменений как в иммунном ответе, так и в общефизиологических и поведенческих модифика-

циях. В обзоре Джеймса и Ксу (James, Xu, 2012) показано влияние растительных и синтетических инсектицидов на параметры иммунитета насекомых: клеточного, в т. ч. активность инкапсуляции и гуморального – экспрессию АМП, активность фенолоксидаз, антиоксидантных, детоксицирующих ферментов. Существует ряд работ по исследованию комбинированного воздействия инсектицидов и энтомопатогенных грибов на физиологические системы насекомых. Хиромори и Нишигаки (Hiromori, Nishigaki, 2001) установили, что синергизм между *M. anisopliae* s. l. и инсектицидами (фенитротрион и тефлубензурон) на личинках *Anomala cuprea* Норе ассоциирован с сильным падением активности фенолоксидазы и пула гранулоцитов при совместном действии указанных агентов. Зибай с соавторами (Zibae et al., 2012) показали, что сочетание аналога ювенильного гормона пирипроксифена и гриба *B. bassiana* приводит к ингибированию ряда параметров клеточного иммунитета и снижению фенолоксидазной активности у клопа *Eurygaster integriceps* Puton. Парк и Ким (Park, Kim, 2011) установили, что метаболит бактериального происхождения бензилиденацетон усиливает восприимчивость личинок совки *S. exigua* к грибу *B. bassiana* на основе нарушения иммунного ответа к микозу со стороны клеточного иммунитета и ряда АМП. Совместное воздействие инсектицида на основе растительного алкалоида матрин и гриба *Lecanicillium muscarium* R. Zare & W. Gams на белокрылку *Bemisia tabaci* (Gennadius) было изучено Али с соавторами (Ali et al., 2017). Авторы показали, что синергизм обусловлен нарушением ряда антиоксидантных и детоксицирующих реакций, а также ацетилхолинового баланса у насекомых при комбинированном действии матрина и грибной инфекции. Сходные эффекты были выявлены на саранче *L. migratoria* при комбинированном действии рианоида хлорантранилипрол и гриба *M. anisopliae* (Jia et al., 2016). Авторы предположили, что основная причина синергизма связана с нарушением баланса ионов кальция в насекомом-хозяине.

При синергизме между грибами и инсектицидами важную роль играют общефизиологические нарушения у насекомых, такие как нарушение питания и отставание в развитии (Furlong, Groden, 2001, 2003; Akhanaev et al., 2017; Fisher et al., 2017). Например, Фишер с соавторами (Fisher et al., 2017) показали, что синергизм в смертности жука *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky) при комбинированном воздействии гриба *M. brunneum* и неоникотиноида иминоклаприда аналогичен таковому при воздействии *M. brunneum* и голодания. Одной из причин синергизма является то, что действие иминоклаприда на жуков, как и голодание, предотвращает повышение уровня инкапсуляции, вызываемое грибной инфекцией. Однако под воздействием иминоклаприда данное ингибирование было более сильным, чем при голодании. Нами в серии работ на личинках колорадского жука показано, что природные и полусинтетические инсектициды (авермектины, фторированные производные усниновой кислоты) являют-

ся сильными синергистами грибов *M. robertsii* и *B. bassiana* (Tomilova et al., 2016; Akhanaev et al., 2017; Kryukov et al., 2018c). Среди физиологических изменений мы регистрировали нарушение клеточного иммунного ответа и активации антиоксидантных и детоксицирующих ферментов к грибу под влиянием полулетальных или сублетальных доз этих токсикантов. Однако более существенным фактором, влияющим на усиление восприимчивости к грибу, была задержка в развитии под влиянием инсектицидов, приводящая к «фиксации» на определенной восприимчивой стадии онтогенеза (начало IV личиночного возраста) (Tomilova et al., 2019). Высокая восприимчивость этой стадии была ассоциирована с наибольшим обилием насыщенных углеводов эпикутикулы, высокой аттрактивностью кутикулы для конидий, тонкой кутикулой, а также низким уровнем общего числа гемоцитов и инкапсуляции, по сравнению с более поздними стадиями онтогенеза. Таким образом, усиление восприимчивости насекомых к грибам по всей видимости происходит из-за нарушения целого комплекса иммунных реакций в результате воздействия токсикантов. Кроме того, существенную роль здесь играют онтогенетические изменения, наблюдаемые под действием инсектицидов.

Роль сопутствующих инфекций и симбиотических микроорганизмов

Сопутствующие бактериальные патогены могут значительно усиливать восприимчивость насекомых к грибам. Хорошо известно, что суб- и полулетальные дозы бактерии *B. thuringiensis* существенно повышают восприимчивость разных видов Coleoptera и Lepidoptera к грибам *Beauveria* и *Metarhizium* как в лабораторных экспериментах, так и в полевых условиях (Wraight, Ramos, 2005, 2017; Kryukov et al., 2009; Sayed, Behle, 2017). На примере личинок колорадского жука показано, что причинами данного синергизма являются задержка развития под действием бактериоза (Wraight, Ramos, 2005), а также нарушения клеточного иммунного ответа, изменения в активности фенолоксидаз, антиоксидантных и детоксицирующих ферментов под влиянием *B. thuringiensis* (Yaroslavtseva et al., 2017). Микроспоридиозы также повышают чувствительность хозяев к грибным инфекциям *Beauveria* и *Metarhizium*, что показано на саранчовых и чешуекрылых (Tounou et al., 2008; Rahman et al., 2010; Tokarev et al., 2011), хотя иммунный ответ к грибу под действием микроспоридиозов специально не исследовался. Нематоды *Sychnotylenchus* sp., ассоциированные с уссурийским полиграфом *Polygraphus proximus* Blandford, вызывают повышение восприимчивости насекомого-хозяина к грибу *B. bassiana* (Kerchev et al., 2017). При этом у линии полиграфа, зараженной нематодами, отмечен сниженный уровень фенолоксидазной и эстеразной активности по сравнению с линией, свободной от нематод.

При развитии микозов грибы вступают во взаимоотношения с симбиотической флорой хозяина, локализующейся на покровах, в гемоцеле и кишечнике (Boucías

et al., 2018). Эти взаимодействия могут быть прямыми (на основе антагонистических взаимодействий между микроорганизмами) либо опосредованными через реакции гуморального и клеточного иммунитета хозяина. В первом случае бактериальные ассоцианты чаще выступают как часть защитной системы насекомого, во втором – могут приводить как к антагонизму, так и к синергизму с грибным патогеном.

Установлено, что грамположительные бактерии *Bacillus* sp., ассоциированные с кутикулой цикадовых и дельфацид, проявляют антагонизм по отношению к большому количеству изолятов *B. bassiana* и *M. anisopliae* (Toledo et al., 2011, 2015). Большой цикл работ по кутикулярной флоре был проведен на муравьях-листорезах рода *Acromyrmex* (Mattoso et al., 2012; de Souza et al., 2013; Couceiro et al., 2016 и др.). На кутикуле этих муравьев развиваются мутуалистические актинобактерии – *Pseudonocardiaceae*, которые способствуют защите выращиваемых муравьями базидиомицетов (используемых для питания) от специализированных грибов *Escovopsis*, а также от различных энтомопатогенов, включая *Metarhizium*. Поверхностная обработка муравьев антибиотиками повышала восприимчивость муравьев к *Metarhizium*.

Взаимодействия энтомопатогенных грибов с бактериями гемоцеля и кишечника могут быть как антагонистическими, так и синергистическими. Теоретически при развитии микоза гриб должен ингибировать микрофлору хозяина, в особенности ассоциированную с кишечным трактом, поскольку это критично для завершения цикла и образования дочернего поколения гриба (Boucias et al., 2018). Однако экспериментальные данные чаще свидетельствуют о подъеме общего пула кишечных бактерий или отдельных представителей при развитии гриба в кутикуле и гемоцеле (Wei et al., 2017; Ramirez et al., 2018; Xu et al., 2018). На примере имаго комаров *Anopheles* показано, что перкутикулярное инфицирование грибом *B. bassiana* приводит к снижению в кишечнике активности дуалоксидазы (DUOX), ответственной за продукцию АКМ, а также к снижению экспрессии генов кодирующих антимикробные пептиды (Wei et al., 2017). Это сопровождается подъемом численности условных патогенов *Serratia marcescens* и обуславливает их проникновение из кишечника в гемоцель (Wei et al., 2017). Данные процессы способствуют более быстрому развитию грибной инфекции у *Anopheles*. У жуков-короедов *Dendroctonus valens* LeConte перкутикулярное инфицирование конидиями *B. bassiana* приводило к повышению относительного обилия кишечных протеобактерий *Erwinia*, а скормливание данных бактерий аксенным жукам вызывало повышение восприимчивости к грибной инфекции (Xu et al., 2018). Таким образом, в данных взаимоотношениях формируется комплекс прямых и обратных связей, приводящих к синергизму. Гриб способен «манипулировать» кишечной микробиотой через комплекс иммунных реакций хозяина, что приводит к обострению грибной инфекции. Сопоставимые результаты получены Крамс с соавторами (Krams et al., 2017) на воштинной огневке. Согласно этим данным личинки с обедненной кишечной флорой характеризуются более высоким уровнем инкапсуляции и повышенной экспрессией

АМП в гемолимфе, что может косвенно свидетельствовать о повышении резистентности к грибным инфекциям.

Антагонистические взаимоотношения грибов с кишечными бактериями описаны преимущественно в случаях перорального инфицирования. Например, при подавлении кишечной флоры рыжего таракана *Blatella germanica* (L.) с помощью антибиотиков насекомые становились значительно более восприимчивы к грибу *M. anisopliae* при скормливании конидий (Zhang et al., 2018). Чжоу с соавторами (Zhou et al., 2019) показали, что мухи *Delia antiqua* (Meigen), высоко-резистентные к грибным инфекциям, утрачивают это свойство при ингибировании микрофлоры с помощью антибиотиков. Интересно, что некоторые облигатные внутриклеточные симбионты способны ингибировать развитие микозов. В частности, показано, что присутствие *Wolbachia* может усиливать резистентность дрозофил *D. melanogaster* к грибу *B. bassiana* (Panteleev et al., 2007). Сходным образом у тлей присутствие эндосимбионтов *Rickettsia* и *Spiroplasma* приводило к повышению устойчивости к энтомофторовому грибу *Pandora neoaphidis* (Remaud. & Hennebert) Humber либо к снижению споруляции этого гриба на трупках тлей (Lukasik et al., 2013).

Воздействие различных биотических и абиотических факторов может приводить к изменению восприимчивости к грибным инфекциям через изменения в микробиоме насекомых. Например, воздействие низких доз нейротоксических инсектицидов (комплекс авермектинов) на личинок комара *Aedes aegypti* (L.) приводит к перестройке микробиома в сторону снижения относительного обилия актинобактерий *Microbacterium paraoxydans* – антагонистов грибов и увеличения относительного обилия некоторых синергистов грибов, таких как *Pseudomonas* sp. (Noskov et al., 2020). Это приводит к более быстрой колонизации гемоцеля личинок гифальными телами *M. robertsii* и, соответственно, более быстрой гибели насекомых. В целом изучение взаимодействий между патогенными грибами и симбионтной микрофлорой насекомых находится на начальных этапах и требует более глубоких исследований.

Паразитоиды

Конкурентные взаимодействия между паразитоидами и энтомопатогенными грибами чаще всего складываются в пользу грибов, при этом исход в этих отношениях зависит от последовательности и интервала времени между откладкой яиц паразитоидом в/на хозяина и его инфицированием грибами (Roy, Pell, 2000). Как правило, чем меньше интервал между откладкой яиц и последующим инфицированием грибом, тем меньше шансов у паразитоида пройти успешное развитие. При этом паразитоиды часто не способны дифференцировать зараженных и не зараженных грибами хозяев, особенно если речь идет о ранних стадиях развития микозов (Baverstock et al., 2010). Паразитоиды выделяют различные антибиотические коктейли для подавления патогенных и симбиотических микроорганизмов хозяина (Weiss et al., 2014). С другой стороны,

эти метаболиты приводят к резкому подавлению клеточного и гуморального иммунитета хозяев, что необходимо для развития паразитоидов (Richards, 2012; Becchimanzi et al., 2017). Кроме того, паразитоидные инвазии могут приводить к морфологическим и биохимическим изменениям кутикулы насекомых-хозяев (El-Sufty, Fuhrer, 1981b). Указанные физиологические изменения у хозяев могут делать их весьма «легкодоступными» для энтомопатогенных грибов. Усиление восприимчивости насекомых к грибам под влиянием паразитоидов (Braconidae и Ichneumonidae), их ядов или отдельных компонентов ядов показано в ряде работ (King, Bell, 1978; El-Sufty, Fuhrer, 1981a; Dani et al., 2004; Dos Santos et al., 2006; Richards et al., 2011). Согласно нашим исследованиям парализация личинок вошинной огневки ядом эктопаразитоида *Habrobracon hebetor* (Say) приводит к резкому усилению восприимчивости к энтомопатогенным грибам *Beauveria*, *Metarhizium* и *Isaria* (Kryukov et al., 2013). В частности, восприимчивость парализованных личинок к грибу *B. bassiana* увеличивалась почти в пять тысяч раз. Последующие исследования выявили целый комплекс механизмов данного повышения чувствительности. Было установлено, что у парализованных личинок изменяются фунгистатические свойства кутикулы, что обуславливает высокую скорость прорастания гриба (Kryukov et al., 2018d). У парализованных личинок наблюдалось резкое падение клеточного иммунитета, в частности – снижение способности гемоцитов к адгезии, падение их выживаемости (Kryukova et al., 2015) и падение уровня инкапсуляции (Kryukov et al., 2018d). Интересно, что при парализации паразитоидом у личинок огневки также наблюдались резкие изменения в бактериальном сообществе кишечника, выражающиеся в подъеме численности *Enterobacter* sp., *Serratia marcescens* и *Enterococcus faecalis* (Polenogova et al., 2019). Скармливание данных бактерий личинкам огневки приводило к увеличению чувствительности к *B. bassiana*, но физиологические механизмы данного повышения остались не выясненными. Мы предположили, что *H. hebetor* имеет слабые механизмы избегания конкуренции с энтомопатогенными грибами, поскольку для паразитоида характерна весьма короткая по времени личиночная стадия (3–4 суток), которая может опережать развитие гриба. Поскольку самки паразитоида парализуют избыточное количество личинок (больше, чем необходимо для откладки яиц), и личинки не употребляют в пищу хозяина полностью, парализованные насекомые могут представлять собой весьма доступный ресурс для развития микроорганизмов, в том числе энтомопатогенных грибов (Kryukov et al., 2018d).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Энтомопатогенные аскомицеты характеризуются большим и сложным комплексом биохимических механизмов, направленных на развитие в насекомых, а насекомые-хозяева имеют разнообразные и многоступенчатые механизмы защиты от этих патогенов. Биотические и абиотические факторы могут оказывать сильное влияние на взаимодействия между насекомыми и энтомопатогенными грибами в пользу первого

либо второго звена системы. Вопросы, касающиеся влияния факторов внешней и внутренней среды насекомых на их восприимчивость к грибам, изучены недостаточно, и особенно это касается биотических воздействий. Причины усиления чувствительности насекомых к грибам под влиянием субоптимальных температур, инсектицидов, сопутствующих инфекций и паразитоидов имеют комплексную основу, выражающуюся в одновременном подавлении многих защитных систем, а также в онтогенетических нарушениях. Данная особенность может быть важной для развития подходов к биологическому контролю хозяйственно значимых видов. Вероятно, общее угнетение организма насекомых может быть более эффективным, чем ингибирование конкретных звеньев иммунитета, поскольку у хозяев могут проявляться различные компенсаторные механизмы защиты. Поэтому последующие исследования могут быть направлены на ингибирование физиологических механизмов, определяющих широкий спектр защитных реакций насекомых против микроорганизмов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (грант № 19-14-00138). Анализ влияния сопутствующих инфекций и симбионтов на устойчивость насекомых к грибам выполнен при поддержке гранта этого же фонда (№ 20-74-10043).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Борисов Б.А., Серебров В.В., Новикова И.И., Бойкова И.В. 2001. Энтомопатогенные аскомицеты и дейтеромикеты. В кн.: Глупова В.В. (ред.). Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. М., Круглый год, 352–427.
- Коваль Э.З. 1984. Клавиципитальные грибы СССР. Киев, Наукова Думка, 287 с.
- Akhanaev Yu.B., Tomilova O.G., Yaroslavl'tseva O.N., Duisembekov B.A., Kryukov V.Yu., Glupov V.V. 2017. Combined action of the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* and avermectins on the larvae of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera, Chrysomelidae). *Entomological Review* 97: 158–165. DOI: 10.1134/S0013873817020026
- Ali I S., Zhang C., Wang Z., Wang X.-M., Wu J.-H., Cuthbertson A.G.S., Shao Z., Qiu B.-L. 2017. Toxicological and biochemical basis of synergism between the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and the insecticide matrine against *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Scientific Reports*, 7: 46558. DOI: 10.1038/srep46558
- Anwar W., Javed M.A., Shahid A.A.K., Akhter A., Rehman M.Z.U., Hameed U., Iftikhar S., Haider M.S. 2019. Chitinase genes from *Metarhizium anisopliae* for the control of whitefly in cotton. *Royal Society Open Science* 6 (8). DOI:10.1098/rsos.19412
- Barbehenn R.V., Poopat U., Spencer B. 2003. Semiquinone and ascorbyl radicals in the gut fluids of caterpillars measured with EPR spectrometry. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 33 (1): 125–130. DOI: 10.1016/S0965-1748(02)00183-2
- Barbehenn R.V., Dodick T., Poopat U. 2005. Fenton-type reactions and iron concentrations in the midgut fluids of tree-feeding caterpillars. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 60 (1): 32–43. DOI: 10.1002/arch.20079

- Barbehenn R.V., Constabel C.P. 2011. Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry* 72 (13): 1551–1565. DOI: 10.1016/j.phytochem.2011.01.040
- Barelli L., Padilla-Guerrero I.E., Bidochka M.J. 2011. Differential expression of insect and plant specific adhesin genes, Mad1 and Mad2, in *Metarhizium robertsii*. *Fungal Biology* 115 (11): 1174–1185. DOI: 10.1015/j.funbio.2011.08.003
- Baverstock J., Roy H.E., Pell J.K. 2010. Entomopathogenic fungi and insect behaviour: from unsuspecting hosts to targeted vectors. *BioControl* 55: 89–102. DOI: 10.1007/978-90-481-3966-8_7
- Bayry J., Aïmanianda V., Guijarro J.I., Sunde M., Latge J.P. 2012. Hydrophobins—Unique Fungal Proteins. *PLoS Pathogen* 8 (5). DOI: 10.1371/journal.ppat.1002700
- Becchimanzi A., Avolio M., Di Leli I., Marinelli A., Varricchio P., Grimaldi A., de Eguileor M., Pennacchio F., Caccia S. 2017. Host regulation by the ectophagous parasitoid wasp *Bracon nigricans*. *Journal of Insect Physiology* 101: 73–81. DOI:10.1016/j.jinsphys.2017.07.002
- Blanford S., Thomas M.B., 2001. Host thermal biology: the key to understanding host–pathogen interactions and microbial pest control? *Agricultural and Forest Entomology* 1 (3): 195–202. DOI:10.1046/j.1461-9563.1999.00027.x
- Boomsma J.J., Jensen A.B., Meyling N.V., Eilenberg J. 2014. Evolutionary Interaction Networks of Insect Pathogenic Fungi. *Annual Review of Entomology* 59: 467–485. DOI: 10.1146/annurev-ento-011613-162054
- Boucias D.G., Zhou Y., Huang S., Keyhani N.O. 2018. Microbiota in insect fungal pathology. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102: 5873–5888. DOI: 10.1007/s00253-018-9089-z
- Catalan T.P., Wozniak A., Niemeyer H.M., Kalergis A.M., Bozinovic F. 2012. Interplay between thermal and immune ecology: Effect of environmental temperature on insect immune response and energetic costs after an immune challenge. *Journal of Insect Physiology* 58 (3): 310–317. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2011.10.001
- Charnley A.K. 2003. Fungal pathogens of insects: cuticle degrading enzymes and toxins. *Advances in Botanical Research* 40: 241–321. DOI: 10.1016/S0065-2296(05)40006-3
- Chen K., Lu Z. 2018. Immune responses to bacterial and fungal infections in the silkworm, *Bombyx mori*. *Developmental and Comparative Immunology* 83: 3–11. DOI: 10.1016/j.dci.2017.12.024
- Chouvenc T., Su N.-Y., Robert A. 2009. Cellular encapsulation in the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera), against infection by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 101 (3): 234–241. DOI: 10.1016/j.jip.2009.05.008
- Couceiro J.D., Marcelino W.L., Amaral K.D., Gandra L.C., de Souza D.J., Della Lucia T.M.C. 2016. Effects of entomopathogenic fungi on the mortality and immune system of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 161 (2): 152–159. DOI: 10.1111/eea.12500
- Dani M.P., Richards E.H., Edwards J.P. 2004. Venom from the pupal endoparasitoid, *Pimpla hypochondriaca*, increases the susceptibility of larval *Lacanobia oleracea* to the entomopathogens *Bacillus cereus* and *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 86: 19–25. DOI: 10.1016/j.jip.2004.03.007
- de Souza D.J., Lenoir A., Kasuya M.C.M., Ribeiro M.M.R., Devers S., Couceiro J.D., Della Lucia T.M.C. 2013. Ectosymbionts and immunity in the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. *Brain Behavior and Immunity* 28: 182–187. DOI: 10.1016/j.bbi.2012.11.014
- Dhar P., Kaur G. 2010. Cuticle-degrading proteases produced by *Metarhizium anisopliae* and their induction in different media. *Indian Journal of Microbiology* 50 (4): 449–455. DOI: 10.1007/s12088-011-0098-1
- Donzelli B.G.G., Krasnoff S.B., Sun-Moon Y., Churchill A.C.L., Gibson D.M. 2012. Genetic basis of destruxin production in the entomopathogen *Metarhizium robertsii*. *Current Genetics* 58: 105–116. DOI: 10.1007/s00294-012-0368-4

- Donzelli B.G.G., Krasnoff S.B. 2016. Molecular genetics of secondary chemistry in *Metarhizium* fungi. *Advances in Genetics* 96: 365–436. DOI: 10.1016/bs.adgen.2016.01.005
- Dos Santos H.J.G., Marques E.J., Barros R., Gondim M.G.C. 2006. Interaction of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and the parasitoid *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) with larvae of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotropical Entomology* 35: 241–245. DOI: 10.1590/S1519-566X2006000200013
- El-Sufy R., Fuhrer E. 1981a. Wechselbeziehungen zwischen *Pieris brassicae* L. (Lep., Pieridae), *Apanteles glomeratus* L. (Hym., Braconidae) und dem Pilz *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Journal of Applied Entomology* 92: 321–329.
- El-Sufy R., Fuhrer E. 1981b. Parasitare veränderungen der wirtskutikula bei *Pieris brassicae* und *Cydia pomonella* durch entomophage endoparasiten. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 30: 134–139. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1981.tb03087.x
- Fan Y., Liu X., Keyhani N. O., Tang G., Pei Y., Zhang W., S. Tong. 2017. Regulatory cascade and biological activity of *Beauveria bassiana* oosporein that limits bacterial growth after host death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (9): 1578–1586. DOI: 10.1073/pnas.1616543114
- Feng P., Shang Y., Cen K., Wang C. 2015. Fungal biosynthesis of the bibenzoquinone oosporein to evade insect immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (36): 11365–11370. DOI: 10.1073/pnas.1503200112
- Ferguson L.V., Dhakal P., Lebenzon J.E., Heinrichs D.E., Bucking C., Sinclair B.J. 2018. Seasonal shifts in the insect gut microbiome are concurrent with changes in cold tolerance and immunity. *Functional Ecology* 32 (10): 2357–2368. DOI: 10.1111/1365-2435.13153
- Ferguson L.V., Sinclair B.J. 2017. Insect immunity varies idiosyncratically during overwintering. *Journal of Experimental Zoology* 327 (5): 222–234. DOI: 10.1002/jez.2067
- Fisher J.J., Castrillo L.A., Donzelli B.G.G., Hajek A.E. 2017. Starvation and imidacloprid exposure influence immune response by *Anoplophora glabripennis* (coleoptera: cerambycidae) to a fungal pathogen. *Journal of Economic Entomology* 110 (4): 1451–1459. DOI: 10.1093/jee/tox124
- Forman H.J. 2016. Redox signaling: An evolution from free radical stoaging. *Free Radical Biology and Medicine* 97: 398–407. DOI: 10.106/j.freeradbiomed.2016.07.003
- Fuller C.A., Postava-Davignon M.A., West A., Rosengaus R.B. 2011. Environmental conditions and their impact on immunocompetence and pathogen susceptibility of the Caribbean termite *Nasutitermes acajutlae*. *Ecological Entomology* 36 (4): 459–470. DOI: 10.1111/j.1365-2311.2011.01289.x
- 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
- Furlong M.J., Groden E. 2003. Starvation induced stress and the susceptibility of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, to infection by *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 83 (2): 127–138. DOI: 10.1016/S0022-2011(03)00066-1
- Gottar M., Gobert V., Matskevich A.A., Reichhart J.M., Wang C., Butt T.M., Belvin M., Hoffmann J.A., Ferrandon D. 2006. Dual detection of fungal infections in *Drosophila* via recognition of glucans and sensing of virulence factors. *Cell* 127 (7): 1425–1437. DOI: 10.1016/j.cell.2006.10.046
- Han P., Jin F., Dong X., Fan J., Qiu B., Ren S. 2013. Transcript and protein profiling analysis of the destruxin A – induced response in larvae of *Plutella xylostella*. *PLoS ONE* 8 (4). DOI: e60771. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060771>

- Hillyer J.F. 2016. Insect immunology and hemopoiesis. *Developmental and Comparative Immunology* 58: 102–118. DOI: 10.1016/j.dci.2015.12.006
- Hiromori H., Nishigaki. 2001. Factor analysis of synergistic effect between the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and synthetic insecticides. *Applied Entomology and Zoology* 36 (2): 231–236. DOI: 10.1303/aetz.2001.231
- Hoffmann J.A. 2003. The immune response of *Drosophila*. *Nature* 426: 33–38. DOI: 10.1038/nature02021
- Hu X., Xiao G. H., Zheng P., Shang Y. F., Su Y., Zhang X.Y., Liu X.Z., Zhan S., St Leger R.J., Wang C.S. 2014. Trajectory and genomic determinants of fungal – pathogen speciation and host adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 16796–16801. DOI: 10.1073/pnas.1412662111
- Huang W., Shang Y., Chen P., Gao Q., Wang C. 2015. MrpacC regulates sporulation, insect cuticle penetration and immune evasion in *Metarhizium robertsii*. *Environmental Microbiology* 17(4): 994–1008. DOI: 10.1111/1462-2920.12451
- 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
- Jaronski S.T. 2010. Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl* 55: 159–185. DOI: 10.1007/s10526-009-9248-3
- Jarrold S.L., Moore D., Potter U., Charnley A.K. 2007. The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. *Mycological Research* 111 (2): 240–249. DOI: 10.1016/j.mycres.2006.10.007
- Jia M., Cao G., Li Y., Tu X., Wang G., Nong X., Whitman D.W., Zhang Z. 2016. Biochemical basis of synergism between pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and insecticide chlorantraniliprole in *Locusta migratoria* (Meyen). *Scientific Reports* 6: 28424. DOI: 10.1038/srep28424
- Jiang Z., Ligoxygakis P., Xia Y. 2020. HYD3, a conidial hydrophobin of the fungal entomopathogen *Metarhizium acridum* induces the immunity of its specialist host locust. *BioRxiv* (The preprint server for biology) DOI: 10.1101/2020.06.13.149757
- Kepler R.M., Luangsa-ard J.J., Hywel-Jones N.L., Quandt C.A., Sung G-H, Rehner S.A., Aime M.C., Henkel T.W., Sanjuan T., Zare R., Chen M., Li Z., Rossman A.Y., Spatafora J.W., Shrestha B. 2017. A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). *IMA Fungus* 8(2): 335–353. DOI: 10.5598/imafungus.2017.08.02.08
- Kerchev I.A., Kryukova N.A., Kryukov V.Yu., Glupov V.V. 2017. Entomoparasitic nematodes *Sychnotylenchus* sp. (Anguinidae) on the four-eyed fir bark beetle *Polygraphus proximus*: effects on the host's immunity and its susceptibility to *Beauveria bassiana*. *Invertebrate Survival Journal* 14: 324–329. DOI: 10.25431/1824-307X/isj.v14i1.324-329
- Kershaw M.J., Moorhouse E.R., Bateman R., Reynolds S.E., Charnley A.K. 1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. *Journal of Invertebrate Pathology* 74(3): 213–223. DOI: 10.1006/jipa.1999.4884
- Keyhani N. 2018. Lipid biology in fungal stress and virulence: Entomopathogenic fungi. *Fungal Biology* 122 (6): 420–429. DOI: 10.1016/j.funbio.2017.07.003
- King, E.G., Bell, J.V. 1978. Interactions between a braconid, *Microplitis croceipes*, and a fungus, *Nomuraea rileyi*, in laboratory-reared bollworm larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 31 (3): 337–340. DOI: 10.1016/0022-2011(78)90225-2

- Komarov D.A., Slepneva I.A., Glupov V.V., Khramtsov V.V. 2005. Superoxide and hydrogen peroxide formation during enzymatic oxidation of DOPA by phenoloxidase. *Free Radical Research* 39: 853–858. DOI: 10.1080/10715760500166693
- Krams I.A., Kecko S., Joers P., Trakimas G., Elferts D., Krams R., Luoto S., Rantala M.J., Inashkina I., Gudra D., Fridmanis D., Contreras-Garduno J., Grantiņa-Ieviņa L., Krama T. 2017. Microbiome symbionts and diet diversity incur costs on the immune system of insect larvae. *Journal of Experimental Biology* 220: 4204–4212. DOI: 10.1242/jeb.169227
- Kryukov V.Yu., Khodyrev V.P., Yaroslavl'tseva 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.Yu., Kryukova N.A., Glupov V.V. 2013. Susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to anamorphic entomopathogenic ascomycetes under envenomation and parasitization by *Habrobracon hebetor*. *Russian Journal of Ecology* 44 (1): 89–92. DOI: 10.1134/S1067413613010074
- Kryukov V.Yu., Tomilova O.G., Yaroslavl'tseva O.N., Wen T.C., Kryukova N.A., Polenogova O.V., Tokarev Y.S., Glupov V.V. 2018a. Temperature adaptations of *Cordyceps militaris*, impact of host thermal biology and immunity on mycosis development. *Fungal Ecology* 35: 98–107. DOI: 10.1016/j.funeco.2018.07.003
- Kryukov V.Y., Yaroslavl'tseva O.N., Whitten M.M.A., Tyurin M.V., Ficken K.J., Greig C., Melo N.R., Glupov V.V., Dubovskiy I.M., Butt T.M. 2018b. Fungal infection dynamics in response to temperature in the lepidopteran insect *Galleria mellonella*. *Insect Science* 25 (3): 454–466. DOI: 10.1111/1744-7917.12426
- Kryukov V.Yu., Tomilova O.G., Luzina O.A., Yaroslavl'tseva O.N., Akhanaev Y.B., Tyurin M.V., Duisembekov B.A., Salakhutdinov N.F., Glupov V.V. 2018c. 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* 74 (3): 598–606. DOI: 10.1002/ps.4741
- Kryukov V.Yu., Kryukova N.A., Tyurin M.V., Yaroslavl'tseva O.N., Glupov V.V. 2018d. Passive vectoring of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* among the wax moth *Galleria mellonella* larvae by the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* females. *Insect Science* 25 (4): 643–654. DOI: 10.1111/1744-7917.12457
- Kryukov V. Y., Kabilov M. R., Smirnova N., Tomilova O. G., Tyurin M. V., Akhanaev Y. A., Polenogova O. V., Danilov V. P., Zhangissina S. K., Alikina T., Yaroslavl'tseva O. N., Glupov V. V. 2019. Bacterial decomposition of insects post-*Metarhizium* infection: Possible influence on plant growth. *Fungal Biology* 123 (12): 927–935. DOI: 10.1016/j.funbio.2019.09.012
- Kryukov V., Kosman E., Tomilova O., Polenogova O., Rotskaya U., Tyurin M., Alikina T., Yaroslavl'tseva O., Kabilov M., Glupov V. 2020. Interplay between Fungal Infection and Bacterial Associates in the Wax Moth *Galleria mellonella* under Different Temperature Conditions *Journal of Fungi* 6(3), 170. <https://doi.org/10.3390/jof6030170>
- Kryukova N.A., Chertkova E.A., Semenova A.D., Glazachev Y.I., Slepneva I.A., Glupov V.V. 2015. Venom from the ectoparasitic wasp *Habrobracon hebetor* activates calciumdependent degradation of *Galleria mellonella* larval hemocytes. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 90 (3): 117–130. DOI: 10.1002/arch.21247
- Li J., Ying S.-H., Shan L.-T., Feng M.-G. 2010. A new non-hydrophobic cell wall protein (CWP10) of *Metarhizium anisopliae* enhances conidial hydrophobicity when expressed in *Beauveria bassiana*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85: 975–984. DOI:10.1007/s00253-009-2083-8

- Lin L., Fang W., Liao X., Wang F., Wei D., St. Leger R. J. 2011. The MrCYP52 cytochrome P450 monooxygenase gene of *Metarhizium robertsii* is important for utilizing insect epicuticular hydrocarbons. PLoS ONE 6 (12): e28984. DOI:10.1371/journal.pone.0028984
- Lu H.-L., St.Leger R.J. 2016. Insect immunity to entomopathogenic fungi. Advances in Genetics 94: 254–286. DOI: 10.1016/bs.adgen.2015.11.002
- Lukasik P., Guo H., Van Asch M., Ferrari J., Godfray H.C.J. 2013. Protection against a fungal pathogen conferred by the aphid facultative endosymbionts *Rickettsia* and *Spiroplasma* is expressed in multiple host genotypes and species and is not influenced by co-infection with another symbiont. Journal of Evolutionary Biology 26 (12): 2654–2661. DOI: 10.1111/jeb.12260
- Lushchak V.I. 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. Chemico-Biological Interactions 224: 164–175. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.10.016
- Mannino M.C., Huarte-Bonnet C., Davyt-Colo D., Pedrini N. 2019. Is the insect cuticle the only entry gate for fungal infection? Insights into alternative modes of action of entomopathogenic fungi. Journal of Fungi 5 (2): 33. DOI: 10.3390/jof5020033
- Mattoso T.C., Moreira D.D.O., Samuels R.I. 2012. Symbiotic bacteria on the cuticle of the leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus* subterraneus protect workers from attack by entomopathogenic fungi. Biology Letters 8 (3): 461–464. DOI: 10.1098/rsbl.2011.0963
- Ment D., Gindin G., Rot A., Soroker V., Glazer I., Barel S., Samish M. 2010. Novel technique for quantifying adhesion of *Metarhizium anisopliae* conidia to the tick cuticle. Applied and Environmental Microbiology 76 (1): 3521–3528. DOI: 10.1128/AEM.02596-09
- Ment D., Gindin G., Rot A., Eshel D., Teper-Bamnolker P., Ben-Ze'ev I., Glazer I., Samish M. 2013. Role of cuticular lipids and water-soluble compounds in tick susceptibility to *Metarhizium* infection. Biocontrol Science and Technology 23 (8): 956–967. DOI: 10.1080/09583157.2013.811217
- Mikonranta L., Mappes J., Kaukoniitty M., Freitak D. 2014. Insect immunity: oral exposure to a bacterial pathogen elicits free radical response and protects from a recurring infection. Frontiers in Zoology 11 (23). DOI: 10.1186/1742-9994-11-23
- Molnar I., Gibson D. M., Krasnoff S. B. 2010. Secondary metabolites from entomopathogenic Hypocrealean fungi. Natural Product Reports 27: 1241–75. DOI 10.1039/c001459c
- Mowlds P., Kavanagh K. 2008. Effect of pre-incubation temperature on susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection by *Candida albicans*. Mycopathologia 165: 5–12. DOI: 10.1007/s11046-007-9069-9
- Nakamura A., Miyado K., Takezawa Y., Ohnami N., Sato M., Ono C., Harada Y., Yoshida K., Kawano N., Kanai S., Miyado M., Umezawa A. 2011. Innate immune system still works at diapause, a physiological state of dormancy in insects. Biochemical and Biophysical Research Communications 410 (2): 351–357. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.015
- Napolitano R., Juarez M.P. 1997. Entomopathogenic fungi degrade epicuticular hydrocarbons of *Triatoma infestans*. Archives of Biochemistry and Biophysics 344 (1): 208–214. DOI: 10.1006/abbi.1997.0163
- Noskov Y.A., Kabilov M.R., Polenogova O.V., Yurchenko Y.A., Belevich O.E., Yaroslavtseva O.N., Alikina T.Y., Byvaltsev A.M., Rotskaya U.N., Morozova V.V., Glupov V.V., Kryukov V.Y. 2020. A neurotoxic insecticide promotes fungal infection in *Aedes aegypti* larvae by altering the bacterial community. Microbial Ecology (in print) DOI: 10.1007/s00248-020-01567-w
- Ortiz-Urquiza A., Keyhani N.O. 2013. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. Insects 4 (3): 357–374. DOI: 10.3390/insects4030357

- Ouedraogo R.M., Cusson M., Goettel M.S., Brodeur J. 2003. Inhibition of fungal growth in thermoregulating locusts, *Locusta migratoria*, infected by the fungus *Metarhizium anisopliae* var *acridum*. Journal of Invertebrate Pathology 82 (2): 103–109. DOI: 10.1016/S0022-2011(02)00185-4
- Pal S., St. Leger R.J., Wu L.P. 2007. Fungal peptide Destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. Journal of Biological Chemistry 282: 8969–8977. DOI:10.1074/jbc.M605927200
- Panteleev D.Y., Goryacheva I.I., Andrianov B.V., Reznik N.L., Lazebny O.E., Kulikov A.M. 2007. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* enhances the nonspecific resistance to insect pathogens and alters behavior of *Drosophila melanogaster*. Russian Journal of Genetics 43 (9): 1066–1069. DOI: 10.1134/S1022795407090153
- Park J., Kim Y. 2011. Benzylideneacetone suppresses both cellular and humoral immune responses of *Spodoptera exigua* and enhances fungal pathogenicity. Journal of Asia-Pacific Entomology 14 (4): 423–427. DOI: 10.1016/j.aspen.2011.06.001
- Pedrini N. 2018. Molecular interactions between entomopathogenic fungi (Hypocreales) and their insect host: Perspectives from stressful cuticle and hemolymph battlefields and the potential of dual RNA sequencing for future studies. Fungal Biology 122 (6): 538–545. DOI: 10.1016/j.funbio.2017.10.003
- Pedrini N., Crespo R., Juarez M.P. 2007. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology 146: 124–137. DOI: 10.1016/j.cbpc.2006.08.003
- Polenogova O.V., Kabilov M.R., Tyurin M.V., Rotskaya U.N., Krivopalov A.V., Morozova V.V., Mozhaitseva K., Kryukova N.A., Alikina T., Kryukov V.Yu., Glupov V.V. 2019. Parasitoid envenomation alters the *Galleria mellonella* midgut microbiota and immunity, thereby promoting fungal infection. Scientific Reports 9: 4012. DOI: 10.1038/s41598-019-40301-6
- Rahman K.M.A., Barta M., Cagan L. 2010. Effects of combining *Beauveria bassiana* and *Nosema pyrausta* on the mortality of *Ostrinia nubilalis*. Central European Journal of Biology 5 (4): 472–480. DOI: 10.2478/s11535-010-0035-z
- Ramirez J.L., Dunlap C.A., Muturi E.J., Barletta A.B.F., Rooney A.P. 2018. Entomopathogenic fungal infection leads to temporospatial modulation of the mosquito immune system. Plos Neglected Tropical Diseases 12 (4): e0006433. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006433
- Richards E.H. 2012. Salivary secretions from the ectoparasitic wasp, *Eulophus pennicornis* contain hydrolases, and kill host hemocytes by apoptosis. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 79 (2): 61–74. DOI: 10.1002/arch.21006
- Richards E.H., Bradish H., Dani M. P., Pietravalle S., Lawson A. 2011. Recombinant immunosuppressive protein from *Pimpla hypochondrica* venom (RvpR1) increases the susceptibility of *Mamestra brassicae* larvae to the fungal biological control agent, *Beauveria bassiana*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 78 (3): 119–131. DOI: 10.1002/arch.20447
- Rios-Moreno A., Garrido-Jurado I., Raya-Ortega M.C., Quesada-Moraga E. 2017. Quantification of fungal growth and destruxin A during infection of *Galleria mellonella* larvae by *Metarhizium brunneum*. Journal of Invertebrate Pathology 149: 29–35. DOI: 10.1016/j.jip.2017.06.007
- Roberts D.W., Humber R.A. 1981. Entomogenous Fungi. In: Cole G.T., Kendrick B. (eds). Biology of Conidial Fungi. New York: Academic Press 201–236.
- Roy H.E., Pell J.K. 2000. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. Biocontrol Science and Technology 10 (6): 737–752. DOI: 10.1080/09583150020011708

- Sanzhaeva U., Vorontsova Y., Glazachev Y., Slepneva I. 2016. Dual effect of nitric oxide on phenoloxidase-mediated melanization. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 31 (6): 1063–1068. DOI: 10.3109/14756366.2015.1088843
- Sayed A.M.M., Behle R.W. 2017. Evaluating a dual microbial agent biopesticide with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and *Beauveria bassiana* blastospores. *Biocontrol Science and Technology* 27 (4): 461–474. DOI: 10.1080/09583157.2017.1303662
- Semenova A.D., Glazachev Y.I., Slepneva I.A., Glupov V.V. 2014. Quantitative determination of nitric oxide production in haemocytes: Nitrite reduction activity as a potential pathway of NO formation in haemolymph of *Galleria mellonella* larvae. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* 37: 46–52. DOI: 10.1016/j.niox.2013.12.011
- Serebrov V.V., Alekseev A.A., Glupov V.V. 2001. Changes in the activity and pattern of hemolymph esterases in the larvae of greater Wax Moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) during Mycosis. *Biology Bulletin* 28: 499–503. DOI: 10.1023/A:1016748328135
- Serebrov V.V., Kiselev A.A., Glupov V.V. 2003. The study of some synergistic factors between entomopathogenic fungi and chemical insecticides. *Mycology and phytopathology* 37 (1): 76–82.
- Serebrov V.V., Martemyanov V.V., Glupov V.V., Gerber O.N., Malyarchuk A.A., Alekseev A.A. 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
- Sevim A., Donzelli B.G.G., Wu D., Demirbag Z., Gibson D.M., Turgeon B.G. 2012. Hydrophobin genes of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium brunneum*, are differentially expressed and corresponding mutants are decreased in virulence. *Current Genetics* 58 (2): 79–92. DOI: 10.1007/s00294-012-0366-6
- Shamakhi L., Zibae A., Karimi-Malati A., Hoda H. 2019. Effect of thermal stress on the immune responses of *Chilo suppressalis* walker (Lepidoptera: Crambidae) to *Beauveria bassiana*. *Journal of Thermal Biology* 84: 136–145. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2019.07.006
- Slepneva I.A., Glupov V.V., Sergeeva S.V., Khramtsov V.V. 1999. EPR detection of reactive oxygen species in hemolymph of *Galleria mellonella* and *Dendrolimus superans sibiricus* (Lepidoptera) larvae. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 264 (1): 212 – 215.
- Slepneva I.A., Komarov D.A., Glupov V.V., Serebrov V.V., Khramtsov V.V. 2003. Influence of fungal infection on the dopa-semiquinone and dopa-quinone production in haemolymph of *Galleria mellonella* larvae. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 300 (1): 188–191. DOI: 10.1016/S0006-291X(02)02766-3
- St. Leger R.J., Joshi L., Bidochka M.J., Roberts D.W. 1995. Protein synthesis in *Metarhizium anisopliae* growing on host cuticle. *Mycological Research* 99 (9): 1034–1040. DOI: 10.1016/S0953-7562(09)80769-7
- St. Leger R.J., Joshi L., Bidochka M.J., Rizzo N.W. 1996. Biochemical characterization and ultrastructural localization of two extracellular trypsins produced by *Metarhizium anisopliae* in infected insect cuticles. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (4): 1257–1264.
- Sung G.H., Hywel-Jones N.L., Sung J.M., Luangsaard J.J., Shrestha B., Spatafora J.W. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Studies in Mycology* 57: 5–59. DOI:10.3114/sim.2007.57.01
- Sung G.H., Poinar G., Spatafora J.W. 2008. The oldest fossil evidence of animal parasitism by fungi supports a *Cretaceous* diversification of fungal-arthropod symbioses. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49 (2): 495–502. DOI: 10.1016/j.ympev.2008.08.028

- Tanaka H., Ishibashi J., Fujita K., Nakajima Y., Sagisaka A., Tomimoto K., Suzuki N., Yoshiyama M., Kaneko Y., Iwasaki T., Sunagawa T., Yamaji K., Asaoka A., Mita K., Yamakawa M. 2008. A genome-wide analysis of genes and gene families involved in innate immunity of *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38 (12): 1087–1110. DOI: 10.1016/j.ibmb.2008.09.001
- Tang G., Shang Y., Li S., Wang C. 2020. MrHex1 is Required for Woronin Body Formation, Fungal Development and Virulence in *Metarhizium robertsii*. *Journal of Fungi* 6 (3) 172. DOI:10.3390/jof6030172
- Thomas M.B., Read A.F. 2007. Can fungal biopesticides control malaria? *Nature Reviews Microbiology* 5: 377–383. DOI: 10.1038/nrmicro1638
- Tokarev Y.S., Levchenko M.V., Naumov A.M., Senderskiy V., Lednev G.R. 2011. Interactions of two insect pathogens, *Paranosema locustae* (Protista: Microsporidia) and *Metarhizium acridum* (Fungi: Hypocreales), during a mixed infection of *Locusta migratoria* (Insecta: Orthoptera) nymphs. *Journal of Invertebrate Pathology* 106 (2): 336–338. DOI: 10.1016/j.jip.2010.09.019
- Toledo A.V., Alippi A.M., Lenicov A.M.D. 2011. Growth inhibition of *Beauveria bassiana* by bacteria isolated from the cuticular surface of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* and the planthopper, *Delphacodes kuscheli*, two important vectors of maize pathogens. *Journal of Insect Science* 11 (1): 1–13. DOI: 10.1673/031.011.0129
- Toledo A., Lopez S., Aulicino M., Lenicov A.M.D., Balatti P. 2015. Antagonism of entomopathogenic fungi by *Bacillus* spp. associated with the integument of cicadellids and delphacids. *International Microbiology* 18 (2): 91–97. DOI:10.2436/20.1501.01.238
- Tomilova O.G., Kryukov V.Yu., Duisembekov B.A., Yaroslavl'tseva O.N., Tyurin M.V., Kryukova N.A., Skorokhod V., Dubovskiy I.M., 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
- Tomilova O.G., Yaroslavl'tseva O.N., Ganina M.D., Tyurin M.V., Chernyak E.I., Senderskiy I.V., Noskov Y.A., Polenogova O.V., Akhanev Y.B., Kryukov V.Yu., Glupov V.V., Morozov S.V. 2019. Changes in antifungal defence systems during the intermoult period in the Colorado potato beetle. *Journal of Insect Physiology* 116: 106–117. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2019.05.003
- Tounou A.K., Kooyman C., Douro-Kpindou O.K., Poehling H.M. 2008. Interaction between *Paranosema locustae* and *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, two pathogens of the desert locust, *Schistocerca gregaria* under laboratory conditions. *Journal of Invertebrate Pathology* 97 (3): 203–210. DOI: 10.1016/j.jip.2007.10.002
- Vega F.E. 2018. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia* 110 (1): 4–30.
- Vega F.E., Meyling N.V., Luangsa-Ard J.J., Blackwell M. 2012. Fungal Entomopathogens. In: Vega, F., Kaya, H. K. (eds.) *Insect Pathology*. 2nd Edition. San Diego, CA: Academic Press.: 171–220. DOI: 10.1016/B978-0-12-384984-7.00006-3
- Vidal C., Fargues J. 2007. Climatic constraints for fungal biopesticides. In: Ekesi S., Maniania N. K. (eds.). *Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management*. Research Signpost Inc, Kerala: 39–55.
- Wang B., Kang Q., Lu Y., Bai L., Wang C. 2012. Unveiling the biosynthetic puzzle of destruxins in *Metarhizium* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (4): 1287–1292. DOI: 10.1073/pnas.1115983109
- Wang C., St. Leger R.J. 2006. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (17): 6647–6652. DOI: 10.1073/pnas.0601951103

- Wang C., Duan Z., St. Leger R. J. 2008. MOS1 Osmosensor of *Metarhizium anisopliae* is required for adaptation to insect host hemolymph. *Eukaryotic Cell* 7 (2): 302–310. DOI:10.1128/EC.00310-07
- Wei G., Lai Y., Wang G., Chen H., Li F., Wang S. 2017. Insect pathogenic fungus interacts with the gut microbiota to accelerate mosquito mortality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114(23): 5994–5999. DOI:10.1073/pnas.1703546114
- Wosten H.A. 2001. Hydrophobins: multipurpose proteins. *Annual Review of Microbiology* 55: 625–646. DOI: 10.1146/annurev.micro.55.1.625
- Wraight S.P., Ramos M.E. 2005. Synergistic interaction between *Beauveria bassiana* – and *Bacillus thuringiensis tenebrionis* – based biopesticides applied against field populations of Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 90 (3): 139–150. DOI: 10.1016/j.jip.2005.09.005
- Wraight S.P., Ramos M.E. 2017. Characterization of the synergistic interaction between *Beauveria bassiana* strain GHA and *Bacillus thuringiensis morrisoni* strain tenebrionis applied against Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 144: 47–57. DOI: 10.1016/j.jip.2017.01.007
- Wronska A.K., Bogus M.I., Wloka E., Kazek M., Kaczmarek A., Zalewska K. 2018. Cuticular fatty acids of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) inhibit fungal enzymatic activities of pathogenic *Conidiobolus coronatus*. *PLoS ONE* 13 (3): e0192715. DOI: 10.1371/journal.pone.0192715
- Xiao G., Ying S.H., Zheng P., Wang Z.L., Zhang S., Xie X.Q., Shang Y., St Leger R.J., Zhao G.P., Wang C., Feng M.G. 2012. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Scientific Reports* 2: 483. DOI: 10.1038/srep00483.
- Xie T., Wang Y., Yu D., Zhang Q., Zhang T., Wang Z., Huang B. 2019. MrSVP, a secreted virulence-associated protein, contributes to thermotolerance and virulence of the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii*. *BMC Microbiology* 19: 25. DOI: 10.1186/s12866-019-1396-8
- Xie X.Q., Li F., Ying S.H., Feng M.G. 2012. Additive contributions of two manganese-cored superoxide dismutases (mnsods) to antioxidation, UV tolerance and virulence of *Beauveria bassiana*. *PLoS ONE* 7 (1): e30298. DOI: 10.1371/journal.pone.0030298
- Xu L., Deng J., Zhou F., Cheng C., Zhang L., Zhang J., Lu M. 2018. Gut microbiota in an invasive bark beetle infected by a pathogenic fungus accelerates beetle mortality. *Journal of Pest Science* 92: 343–351. DOI: 10.1007/s10340-018-0999-4
- Yaroslavtseva O.N., Dubovskiy I.M., Khodyrev V.P., Duisembekov B.A., Kryukov V.Yu., Glupov V.V. 2017. Immunological mechanisms of synergy between fungus *Metarhizium robertsii* and bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp *morrisoni* on Colorado potato beetle larvae. *Journal of Insect Physiology* 96: 14–20. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2016.10.004
- Zhang F., Sun X.X., Zhang X.C., Zhang S., Lu J., Xia Y.M., Huang Y.H., Wang X.J. 2018. The interactions between gut microbiota and entomopathogenic fungi: a potential approach for biological control of *Blattella germanica* (L.). *Pest Management Science* 74 (2): 438–447. DOI: 10.1002/ps.4726
- Zhang L.B., Feng M.G. 2018. Antioxidant enzymes and their contributions to biological control potential of fungal insect pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102: 4995 – 5004. DOI: 10.1007/s00253-018-9033-2
- Zhang S., Widemann E., Bernard G., Lesot A., Pinot F., Pedrini N., Keyhani N.O. 2012. CYP52X1, representing new cytochrome P450 subfamily, displays fatty acid hydroxylase activity and contributes to virulence and growth on insect cuticular substrates in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Biological Chemistry* 287: 13477–13486. DOI: 10.1074/jbc.M111.338947

- Zheng P., Xia Y.L., Xiao G.H., Xiong C.H., Hu X., Zhang S.W., Zheng H.J., Huang Y., Zhou Y., Wang S.Y., Zhao G.P., Liu X., St Leger R.J., Wang C. 2012. Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. *Genome Biology* 12: R116, DOI: 10.1186/gb-2011-12-11-r116
- Zhou F., Wu X., Xu L., Guo S., Chen G., Zhang X. 2019. Repressed *Beauveria bassiana* infections in *Delia antiqua* due to associated microbiota. *Pest Management Science* 75 (1): 170–179. DOI: 10.1002/ps.5084
- Zibae A., Bandani A. R., Talaei-Hassanlouei R., Malagoli D. 2009. Temperature and Ca²⁺ ion as modulators in cellular immunity of the Sunn pest *Eurygaster integriceps* Puton (Heteroptera: Scutelleridae). *Entomological Research* 39 (6): 364–371. DOI: 10.1111/j.1748-5967.2009.00251.x
- Zibae A., Bandani A.R., Malagoli D. 2012. Methoxyfenozide and pyriproxifen alter the cellular immune reactions of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) against *Beauveria bassiana*. *Pesticide Biochem Physiol* 102 (1): 30–37. DOI: 10.1016/j.pestbp.2011.10.006

PHYSIOLOGICAL AND ECOLOGICAL ASPECTS OF INTERACTIONS BETWEEN ENTHOMOPATHOGENIC FUNGI (ASCOMYCOTA, HYPOCREALES) AND INSECTS

V. Yu. Kryukov, O. N. Yaroslavtseva, V. V. Glupov

Keywords: insect immunity, *Beauveria*, *Metarhizium*, host-parasite system, nvironmental factors

SUMMARY

In the review, we briefly summarized virulence mechanisms of entomopathogenic ascomycetes and the defense reactions of host insects. Special attention is paid to the influence of environmental factors (temperature, toxicants, concomitant infections, symbiotic microorganisms and parasitoids) on the physiological aspects of the relationship between insect hosts and entomopathogenic fungi. Based on the analysis performed, we suggest that the increase in the susceptibility of insects to fungal infections under the influence of various stresses has a complex basis, which is expressed by suppression of defense reactions set, as well as by disturbance ontogenesis. Understanding these mechanisms is important for the development of new approaches to biological control of economically important species.