

ZDZISŁAW GLIŃSKI, JAN JAROSZ

Lublin

Odporność w grzybicach owadów

Owady i grzyby, które reprezentują dwie krańcowo różne formy życia, wykształciły liczne związki o podstawowym znaczeniu dla przeżycia i utrzymania równowagi biologicznej. Związki te, obejmują pasożytnictwo, komensalizm, oraz mutualizm (2, 4, 34). Entomopatogenne grzyby występują w biosferze różnych stref klimatycznych, przy czym większość gatunków występuje kosmopolitycznie. Zwiększenie częstotliwości występowania grzybic jest w dużym stopniu skorelowane z istnieniem w środowisku bytowania owadów czynników o działaniu immunosupresyjnym, do których należy między innymi skażenie środowiska pestycydami i metalami ciężkimi. We wszystkich typach współzależności pomiędzy grzybem a owadem, decydującym czynnikiem warunkującym wzajemne relacje jest stan i charakter odporności organizmu owada.

Mechanizmy patogenności entomofilnych grzybów

Przekroczenie filogenetycznie wykształconych barier chroniących jałowość tkanek i narządów, ujawnia potencjalne zagrożenie chorobotwórcze grzybami, które wywołują choroby i śmierć owadów (5, 41). Wydaje się, że naruszenie równowagi biologicznej, charakterystycznej dla normalnej mikroflory organizmu, czyli przejście ze stanu eubakteriozy w dysbakteriozę, nie odgrywa w rozwoju grzybic u owadów takiej roli jak u ssaków. U owadów, w przeciwieństwie do człowieka i zwierząt domowych, głównymi wrotami zakażenia w grzybicach nie jest przewód pokarmowy, ale uszkodzona mechanicznie lub enzymatycznie okrywa ciała owada.

Ciąg zdarzeń, który prowadzi do zakażenia grzybem i śmierci owada obejmuje: przyleganie spor do oskórka, działanie inwazyjne związane z mechanicznym i chemicznym uszkodzeniem okrywy ciała oraz zespół mechanizmów, głównie związanych z efektem wytwarzanych przez grzyba toksyn (grzyby toksynotwórcze), które porażają ważne funkcje życiowe oraz enzymów histolitycznych powodujących dekompozycję tkanek. Nie można przy tym pominąć w patogenie grzybic sposobów unikania przez patogena kontroli immunologicznej owada-gospodarza, mechanizmów selektywnego hamowania względnie niszczenia odczynów obronnych owada, co umożliwi rozwój grzyba w zakażonym organizmie.

Działanie chorobotwórcze grzybów jest efektem współdziałania kilku mechanizmów, których efekty często się potęgują. Najważniejszą rolę odgrywają uszkodzenia mechaniczne okrywy ciała przez

apresorium grzyba oraz niszczenie mechaniczne tkanek i narządów przez rosnącą grzybnię, blokowanie jamy ciała, a często też światła jelita, a także przerastanie tkanek przez grzybnię. Entomopatogenne grzyby np. *Metarhizium anisopliae* i *Beauveria bassiana* zakażają owady za pośrednictwem zarodników konidialnych, które na okrywie ciała wrażliwych żywicieli kiełkują. Wytworzone apresorium penetruje schitynizowany oskórek. Proces penetracji wspomagają enzymy chitynolityczne, proteazy i lipazy, powodując uszkodzenie białkowo-chitynowo-lipidowych struktur okrywy ciała. Powodują one zwyrodnienie i martwicę tkanek, a niekiedy uszkadzają składowe odporności jamy ciała owada. Toksyny, produkowane przez toksynogenne gatunki grzybów, poprzez zaburzenia szlaków przemian istotnych dla życia owada, powodują z reguły porażenie i szybką śmierć porażonych osobników.

Współzawodnictwo o pokarm pomiędzy grzybem i owadem gospodarzem, zwłaszcza w grzybicach dotyczących przewodu pokarmowego, jest jednym z czynników patogenności. Przykładem jest *Ascosphaera apis* – sprawca grzybicy otorbielakowej czerwia pszczoły miodnej.

Ważny problem w patogenie zakażeń grzybiczych stanowi rodzaj sygnałów wysyłanych przez patogena i charakter odpowiedzi gospodarza na te sygnały. Wkrótce po wykiełkowaniu zarodnika są syntetyzowane proteazy Pr 1 (15) i kinazy aktywne w procesie wzrostu i różnicowania grzyba (40). Nie wiele wiadomo o biochemicznych i molekularnych uwarunkowaniach specyficzności entomopatogennych grzybów do określonych gatunków, a niekiedy tylko pewnych stadiów rozwojowych owada. Taką rolę przypisuje się lipidom oskórka (8), ponieważ lipidy mogą stymulować kiełkowanie i poszczególne fazy rozwoju grzyba (3, 25) oraz oosporogenezę (24). Odpowiedzią ewolucyjną owada na pasożyta było wytworzenie nowych rodzajów kwasów tłuszczowych, względnie nowych kombinacji już istniejących kwasów, a także zanik w okrywie ciała substancji koniecznych do wykiełkowania zarodników i stymulujących rozwój grzybni (20). Liczne nienasycone kwasy tłuszczowe o krótkim łańcuchu węglowym hamują rozwój grzybów (37, 38). Przeważa przy tym pogląd, że wymogi odżywcze (specjalizacja pokarmowa) mają mniejsze znaczenie dla swoistości grzyba dla określonego gatunku owada. Gęstość patogena jest równie ważna jak wielkość populacji owadów podatnych na zakażenie (49). Swoistość grzyba dla owada gospodarza jest ukierun-

kowana za pośrednictwem receptorów, pozostających pod kontrolą pojedynczego genu lub grup genów (gene clusters), które bezpośrednio względnie pośrednio sygnalizują obecność wrażliwych owadów na zakażenie grzybicze. Taką rolę spełnia cyklaza adenylowa, kinazy tyrozynowe, serynowe i treoninowe oraz fosfatazy fosfoproteinowe (42, 44, 46). Inna klasa genów steruje enzymami, które mogą inaktywować siły obronne gospodarza. Taką rolę spełnia cytotoksyczna RNA-za *M. anisopliae* interferująca z odpornością komórkową owada. Inne geny odpowiadają za produkcję mykotoksyn, takich jak destruksyny *M. anisopliae*, boverycydyny *B. bassiana* i hydrofobiny (43).

Odporność naturalna

Specyficzny sposób zachowania (odporność behawioralna) może zmniejszyć ekspozycję lub zlikwidować zakażenie. Usuwanie przez robotnice pszczoły miodnej *Apis mellifera* z ula czerwia porażonego przez *Ascospaera apis* zmniejsza ilość zarodników w ulu, a tym samym możliwość zakażenia dużej ilości czerwia. Natomiast ekspozycja przez pasikoniki zakażone *E. grylli* tułowia na działanie promieni słonecznych powodujące zwiększenie temperatury ciała owada do 40°C działa zabójczo na grzyba, który ginie już w 35°C (7). To zjawisko określane jako „gorączka behawioralna” występuje też u muchy domowej *Musca domestica* zakażonej *Entomophthora muscae* (48).

Pojawienie się zarodników grzyba, względnie grzybni na okrywie ciała, w przewodzie pokarmowym i układzie oddechowym owada z reguły nie jest równoznaczne z zakażeniem. Zakażenie jamy ciała i narządów wewnętrznych owada też nie zawsze kończy się śmiercią. Czynnikiem decydującym, który nie dopuszcza do zakażenia oraz hamuje rozwój inwazji w organizmie owada, są bariery anatomiczno-fizjologiczne okrywy ciała, przewodu pokarmowego i tchawek, stanowiące pierwszą linię obrony jamy ciała owada przed inwazją grzyba. Wniknięcie grzybni do hemolimfy po przełamaniu barier mechaniczno-fizjologicznych i rozpoznaniu grzyba jako substancji obcej (non-self) dla organizmu żywiciela uruchamia w jamie ciała komórki i humoralne mechanizmy odporności przeciwważnej.

Bariery ochronne

Okrywa ciała i struktury przewodu pokarmowego, stanowią pierwszą i bardzo efektywną linię obrony przed grzybami. Grzybnia z reguły nie może penetrować nieuszkodzonego szkieletu zewnętrznego owada stanowiącego schitylizowany kompleks białkowo-lipidowy o skomplikowanej strukturze (40). Wrotami zakażenia są uszkodzenia mechaniczne lub enzymatyczne powstałe w efekcie działania enzymów histolitycznych. Struktury anatomiczne okrywy ciała wspomagają nienasycone kwasy tłuszczowe o działaniu przeciwważnym oraz woski stanowiące dodatkową przeszkodę mechaniczną dla strzępki w jej penetracji oskórka. W przewodzie pokarmowym, środowisko biochemiczne utworzone przez enzymy trawienne, produkty trawienia, odczyn treści pokarmowej i potencjał oksydo-redukcyjny nie sprzyjają kiełkowaniu zarodników i rozwojowi grzybni (9, 10). Tylko w nielicznych przypadkach owady zakażają się grzybami *per os*. Amorficzna błona perytroficzna w sposób mechaniczny chroni komórki nabłonka jelita środkowego przed zakażeniem, a współdziałając z komórkami nabłonka, mięśniami i błoną podstawową jelita stanowi skuteczną barierę hamującą wniknięcie strzępek do jamy ciała. Pewne znaczenie w hamowaniu zakażenia w przewodzie pokarmowym owadów, podobnie jak i u ssaków, odgrywa konkurencja o pokarm i miejsce pomiędzy stałą lub przypadkową florą bakteryjną i grzybem.

Odczyny komórkowe

Spośród trzech komórkowych odczynów obronnych uruchamianych w jamie ciała owada w odpowiedzi na zakażenie, w likwidacji infekcji grzybiczych uczestniczą inkapsulacja, w niewielkim zakresie nodulacja i fagocytoza. Właściwości fizykochemiczne ściany komórki grzyba, takie jak hydrofobowość, ładunek elektryczny (27), a zwłaszcza obecność reszt galaktozy i mannozy tworzących kompleksy z białkami oraz obecność β -1,3 glukanu (32) pobudza hemocyty do odczynów obronnych. W procesie indukcji hemocytarnych odczynów obronnych uczestniczą lektyny i mukopolisacharydy (29). Występują one w ziarnistościach hemocytów ziarnistych z których są uwalniane podczas degranulacji. Lektyny *S. exigua* opsonizują blastosporę *Paecilomyces farinosus* i *Beauveria bassiana* umożliwiając ich inkapsulację (33). Z chwilą otoczenia przez ziarniste hemocyty materiał inkapsulowany, włączają się do procesu inkapsulacji plazmatocyty tworząc od 50 do 60 warstw ściany otoczki (16). Melanina odłożona w otoczce dokładnie sekwestruje inkapsulowany materiał od hemolimfy (35).

Nodulacja (tworzenie guzków) polega na otoczeniu hemocytów pochłaniających w procesie fagocytozy fragmenty grzybni lub zarodniki przez kilka warstw hemocytów. Fagocytykujące komórki rozpadają się, a w utworzonym w ten sposób guzku odkłada się melanina, która izoluje zawartość guzka od hemolimfy (23).

Entomopatogenne grzyby dysponują możliwością upośledzenia hemocytarnych odczynów obronnych wytwarzając substancje blokujące lub hamujące mobilizację hemocytów. Metabolity *Beauveria bassiana* drastycznie obniżają ilość hemocytów hemolimfy, a tym samym możliwości inkapsulacji, natomiast destruksyny *Metarhizium anisopliae* hamują nodulację (21).

Konstrytuwne składniki hemolimfy o aktywności przeciugrzybiczej

Rola czynników humoralnych w odporności owadów na zakażenie grzybicze do niedawna budziła wiele kontrowersji. Szereg badań z ostatnich lat (11, 12, 36) podkreśla rolę inhibitorów proteinaz, zwłaszcza kompleksu inhibitorów proteinazy serynowej, układy oksydazy polifenolowej (47) oraz udział polipeptydów i białek odpornościowych hemolimfy (insect haemolymph immune proteins) o działaniu przeciugrzybowym (6) w odporności jamy ciała na inwazję grzybów. Nadal jednak trudno ocenić, który z mechanizmów, komórkowy czy humoralny, odgrywa ważniejszą rolę w eliminacji grzyba z organizmu owada. Z pewnością w odporności przeciugrzybiczej obydwie mechanizmy współdziałają ze sobą, przy czym w jednych przypadkach efekt ostateczny, to jest zniszczenie patogena jest następstwem działania głównie mechanizmów komórkowych, w innym przypadku o eliminacji grzyba decyduje w większym stopniu odporność humoralna.

Enzymy histolityczne produkowane przez grzyby są ważnym determinantem wirulencji, co umożliwia patogenowi współistnienie z produktami patologicznie zmienionych szlaków metabolicznych zakażonego owada. Jednym ze sposobów zwalczania zakażenia jest inaktywowanie enzymów proteolitycznych przez inhibitory trypsyny, chymotrypsyny i elastazy (36). Skuteczność inhibitora zależy od jego stężenia w hemolimfie oraz od tempa hamowania proteinazy. Drobnocząsteczkowe inhibitory obecne w hemolimfie *Bombyx mori* hamują proteinazy serynowe wielu gatunków grzybów (12, 13), tym samym uniemożliwiają działanie chorobotwórcze grzyba w organizmie owada.

Sygnalem do uruchomienia kaskady układu oksydazy polifenolowej oraz syntezy przeciugrzybiczych polipeptydów w ciele tłuszczowym, podobnie jak i do uruchomienia komórkowych odczynów obronnych, jest rozpoznanie komponent ściany komórki grzyba jako obcych (non-self) dla organizmu owada. Aktywatory są uwalniane ze zlizowanych hemocytów ziarnistych po przyłączeniu do substratów powierzchni zarodnika lub *mycelium*. Jakkolwiek aktywacja układu oksydazy polifenolowej ma zasadniczo charakter niespecyficzny, występuje bowiem też w zakażeniach bakteryjnych, pierwotniaczych i inwazjach entomofilnych nicieni, to w ścianie komórek wielu gatunków grzybów występuje β -1,3 glukan, który u *Bombyx mori* (30) i *Blaberus craniifer* (39) spełnia rolę specyficznego aktywatora tego układu. Melanina będąca produktem końcowym w kaskadzie przemian enzymatycznych sterowanych przez układ oksydazy polifenolowej uszczelnia ścianę otoczki hemocytarnej sekwestrującej zarodniki lub *mycelium*, zaś chinony pojawiające się podczas melanizacji działają przeciwbakteryjnie, słabiej przeciugrzybiczo.

Grzyby dysponują mechanizmami, które umożliwiają uniknięcie rozpoznania a tym samym wyłączenie się spod kontroli immunologicznej. Ściana komórkowa grzybni i *Beauveria bassiana* izolowanej z hemolimfy *Sarcophaga exigua* jest pozbawiona galaktozy i mannozy, a więc nie jest rozpoznawana jako non-self i może rozwijać się w ciele larwy (32). Strzępki mycelialne *Nomurea rileyi* o niskiej zawartości β -1,3 glukanów nie są rozpoznawane przez hemocyty *Sarcophaga exigua* jako obce twory podczas gdy mycelia o dużej zawartości β -1,3 glukanów są rozpoznawane i inkapsulowane. Wiele entomopatogennych grzybów z rodzaju *Entomophthora* tworzy protoplasty w zakażonym organizmie i w ten sposób unika rozpoznania immunologicznego. Należy jednak pamiętać, że enzymy proteolityczne niektórych grzybów są niepodatne na działanie inhibitorów i dzięki temu grzyb może rozwijać swoje działanie patogenne. Produkt ekspresji genu Pr1 szczepów zjadliwych *M. anisopliae* nie jest inaktywowany przez inhibitory proteinaz, a także przez produkty pojawiające się w przebiegu melanizacji hemolimfy, co umożliwia uniknięcie kontroli immunologicznej (43). Wiele inhibitorów proteinaz serynowych hemolimfy, hamuje przy tym aktywację układu oksydazy polifenolowej, pełniąc rolę regulacyjną w organizmie.

Konstrytuwnym składnikiem hemolimfy *Sarcophaga peregrina* działającym na *Candida albicans* jest polipeptyd o cząsteczce zawierającej 67 reszt aminokwasowych (AFP-antifungal protein) (22). Komórki *Candida* eksponowane na działanie AFP z łatwością są inkapsulowane. Sarkotoksyny, (31) indukowane przeciwbakteryjne polipeptydy odpornościowe o *Sarcophaga*, współdziałając z peptydem AFP zwiększają jego aktywność. Zakres działania AFP nie obejmuje jednak entomopatogennych grzybów. U *Sarcophaga exigua* niechorobotwórcza dla owadów *C. albicans* jest inkapsulowana podczas gdy entomopatogenny grzyb *Beauveria bassiana* nie jest inkapsulowany (19).

Oprócz białek o aktywności przeciugrzybiczej obecnych stale, pojawiają się w hemolimfie zakażonych owadów indukowane polipeptydy o działaniu ukierunkowanym na grzyby. Co ciekawsze, zakres aktywności indukowanych peptydów przeciugrzybiczych nie zawsze ogranicza się do grzybów entomofilnych, niekiedy obejmuje grzyby patogenne dla zwierząt i ludzi, a także grzyby fitopatogenne (6). Niektóre indukowane polipeptydy owadów oprócz aktywności przeciugrzybowej działają też przeciwbakteryjnie. Takie właściwości posiadają m.in. miecznikowiny (28).

Odporność nabyta (indukowana)

W nabytej odporności przeciwezkażnej biorą udział w działaniu 0-glikozyłowane peptydy o dzia-

DCLSGRYKGPICAVWDNETCRRVCKEEGRSSGHCSPSLKWCCEGC

Drozomycyna

GSKKPVPIIYCNRRTGKCRQM

Tanatyna

AKIPIKAIKTVGAKVGKGLRAINIASTANDVFNFLKPKKRKH

Morycyna

Ryc. 1. Struktura pierwszorzędowa cząsteczki drozomycyny *Drosophila melanogaster*, tanatyny *Podisus maculiventris* (6) i morycyny *Bombyx mori* (17)

łaniu przeciwgrzybowym (drozomycyna i tanatyna), metalnikowiny, miecznikowiny. W 1994 r. Fehlbaum i wsp. (14) wyodrębnili z hemolimfy muszki owocowej *Drosophila melanogaster* (Diptera) polipeptyd (drozomycyna) o działaniu przeciwgrzybiczym. W dwa lata później ci sami autorzy stwierdzili obecność polipeptydu o działaniu przeciwgrzybiczym, a także i działaniu przeciwbakteryjnym w hemolimfie *Podisus maculiventris*.

Drozomycyna zbudowana z 44 reszt aminokwasowych posiada w cząsteczce aż 8 reszt cysteiny tworzących 4 mostki dwusiarczkowe (ryc. 1). Obecność cysteiny warunkuje oporność na ogrzewanie i skrajne wartości pH. Struktura pierwszorzędowa drozomycyny wykazuje duży stopień homologii z roślinnymi polipeptydami o działaniu przeciwgrzybowym (defenzyny roślinne). W stężeniu poniżej 1 μM drozomycyna działa na grzyby patogenne dla roślin i zwierząt (18).

Tanatyna (thanatin), indukowany polipeptyd o cząsteczce złożonej z 21 reszt aminokwasowych ma jeden mostek dwusiarczkowy (ryc. 1). Ten polipeptyd w stężeniu 0,5-5,0 μM działa na zoopatogenne i fitopatogenne grzyby, a także na bakterie Gram dodatnie i Gram ujemne. Za aktywność przeciwgrzybową odpowiada trójpeptyd zlokalizowany w części N-terminalnej cząsteczki tanatyny (6).

Badając aktywność hemolimfy immunizowanych gąsienic jedwabnika morwowego *Bombyx mori* (Lepidoptera), Hara i Yamakawa (18) wykryli w 1995 r. morycynę, polipeptyd złożony z 42 reszt aminokwasowych (ryc. 1), hamujący wzrost *Staphylococcus aureus*. Strukturą działania docelowego tego polipeptydu nazwanego morycyną (moricin) jest błona komórki bakteryjnej (17). Fragment N-terminalny cząsteczki odpowiada za działanie przeciwbakteryjne, które polega na zwiększeniu przepuszczalności liposomów komórki bakteryjnej. Dalsze badania wykazały, że na morycynę jest podatny oprócz *Staphylococcus aureus* też *Escherichia coli*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* i *B. cereus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Streptococcus pyogenes*. Bakterie Gram dodatnie

I VDKPDYRPRPRPPNM

Ila VDKPDYRPRPWPRPN

Ilb VDKPDYRPRWPRNI

III VDKPDYRPRPWPRPNM

Metalnikowiny

HRHQPTFDTRPSPFNPNQPRPGIY

Miecznikowina

Ryc. 2. Struktura pierwszorzędowa cząsteczki miecznikowiny *Drosophila melanogaster* i metalnikowiny *Palomena prasina* (6)

są bardziej wrażliwe na działanie morycyny aniżeli bakterie Gram ujemne.

Struktura α -helikalna cząsteczki morycyny upodabnia ją do cekropin, z tym że morycyna nie posiada azotu aminowego. Ponadto w cząsteczce morycyny nie ma mostków dwusiarczkowych. Morycyna jako indukowane białko odpornościowe o szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego jest jednym z głównych czynników humoralnych obrony przeciwbakteryjnej jamy ciała jedwabnika morwowego. Aktywność przeciwgrzybowa morycyny jest słabo zaznaczona i w zasadzie ukierunkowana na drożdżaki (18).

Metalnikowiny stanowią interesującą grupę bogatych w prolinę (proline-rich peptides) peptydów odpornościowych, ponieważ ich spektrum działania dotyczy zarówno bakterii jak i grzybów (6). Te indukowane drobnocząsteczkowe polipeptydy opisane u *Palomena prasina* występują w czterech izoformach (I, Ila, Ilb i III), każda zbudowana z 26 reszt aminokwasowych (ryc. 2). W przeciwieństwie do bakteriobójczego działania drozycyny i pyrokorycyny, działają one bakteriostatycznie. Metalnikowiny muszki owocowej *Drosophila melanogaster* nie działają na bakterie Gram ujemne, natomiast cechują się wysoką aktywnością skierowaną przeciwko bakteriom Gram dodatnim i grzybom.

Miecznikowiny, ostatnio opisana grupa polipeptydów odpornościowych owadów, została wykryta w hemolimfie zakażonych muszek *Drosophila melanogaster*. Cząsteczka złożona z 26 reszt aminokwasowych (ryc. 2) wykazuje duże podobieństwo z abycyną pszczoły miodnej i lebecynami jedwabnika morwowego. Zakres działania miecznikowin jest szeroki i obejmuje bakterie oraz grzyby (28).

Sprawność komórkowych i humoralnych odczynów odpornościowych jamy ciała owada w zakażeniach grzybiczych jest imponująca. Pomimo obecności w hemolimfie grzybni, nie może ona za życia owada przerastać narządów wewnętrznych. Dopiero po śmierci grzybnia szybko przerasta ciało owada. Obserwuje się przy tym pewną sekwencję w kolonizacji narządów wewnętrznych owada przez grzybnię. W pierwszej kolejności atakuje ona ciało

tłuszczowe, następnie przewód pokarmowy, cewki Malpighiego, wewnętrzną warstwę okrywy ciała, układ nerwowy, a na końcu mięśnie i tchawki.

Perspektywy wykorzystania badań nad relacją grzyb – owad

Badania czynników odpowiadających za patogenność grzybów dla owadów, genetycznych uwarunkowań zjadliwości, sposobów unikania kontroli immunologicznej zwłaszcza mechanizmów odporności przeciwważnej owadów nabierają coraz większego znaczenia w związku z możliwościami wykorzystania entomopatogennych grzybów jako bezpiecznych pestycydów. W tym celu można wykorzystać dwa mechanizmy działania: supresję odporności (zarówno barier ochronnych jaką jest okrywa ciała i struktury przewodu pokarmowego oraz mechanizmów odporności jamy ciała owada), względnie zwiększenie w istotny sposób zjadliwości entomopatogennych grzybów bądź przez przeniesienie genów zjadliwości (genes with anti-insect activity) z gatunków silnie entomopatogennych grzybów na grzyby mniej patogene, bądź ich transformację do roślin i uzyskanie ich ekspresji. Inżynieria genetyczna wykorzystując transformacje oraz klonowanie genów o określonych cechach zjadliwości, z możliwościami eliminacji cech które mogą utrudniać wykorzystanie grzyba jako insektycydu biologicznego, stwarza nowe perspektywy dla produkcji nowej klasy insektycydów, w których genetycznie zmieniony organizm o efektywnym działaniu na wybrany gatunek owada nie zagraża środowisku. Co więcej, grzyby mogą być wykorzystywane jako źródło i bank genów do otrzymywania transgenicznych roślin, w których produkty ekspresji genów „patogenności dla owadów” spowodują śmierć pasożytujących owadów. Pula genowa obejmuje produkcje enzymów proteolitycznych, toksyn przez transgeniczne rośliny lub wirusy. Użycie genów grzybów o aktywności ukierunkowanej na wybrane gatunki owadów (genes with anti-insect activity) wyszło poza ramy badań laboratoryjnych. Transfer i ekspresja genów inhibitorów proteinaz do tytoniu umożliwiła uzyskanie roślin odpornych na pasożytowanie gąsienic *Manduca sexta* (1). Duże postępy poczyniono nad możliwościami przeniesienia do roślin genów hamujących aktywność α -amylazy, a tym samym obniżających odporność humoralną owadów na zakażenia grzybicze.

Piśmiennictwo

1. An G., Johnson R., Narvaez J., Ryan C. A.: Proc. Natl. Acad. Sci. 86, 9871, 1989.
2. Beawer R. A.: Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles. w: Insect Fungus-Interactions. N. Wilding, M. N. Collins, P. M. Hammond, J. F. Webber (red.). Academic Press, London 1989, s. 121.
3. Bidochka M. J., Khachatourians G. G.: Ent. Exp. Appl. 45, 151, 1987.
4. Borden J. H.: Aggregation pheromones. w: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, vol. 9. G. A. Kerkut, L. I. Gilbert (red.). Pergamon Press, Oxford 1985, s. 257.
5. Boucias D. G., Pendland J. C.: Attachment of mycopathogens to cuticle: the initial event of mycoses in arthropod host. w: The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals. G. T. Cole, H. C. Hoch (red.). Plenum Press, NY 1991, s. 101.
6. Bulet P., Hoffmann D., Hetru C.: „Entomopathogenic Nematodes” Workshop, Punta del Gada March 18-22, 1996. 1, 1996.
7. Carruthers R. I., Onsager J. A.: Environ. Entomol. 22, 885, 1993.
8. Charnley A. K.: Physiological aspects of the destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review. w: Invertebrate Microbial Interactions. J. M. Anderson, D. M. Rayner, D. W. A. Walton (red.). Cambridge Univ. Press, London 1984, s. 229.
9. Dillon R. J., Charnley A. K.: Mycopathol. 96, 59, 1986.
10. Dillon R. J., Charnley A. K.: J. Invertebr. Pathol. 47, 350, 1986.
11. Eguchi M.: Comp. Biochem. Physiol. 105B, 449, 1993.
12. Eguchi M., Itoh M., Chou L., Nishino K.: Comp. Biochem. Physiol. 104B, 537, 1993.
13. Eguchi M., Itoh M., Nishino K., Shibata H., Tanaka T., Kamei-Hayashi K., Hara S.: J. Biochem. 115, 881, 1994.
14. Fehlbauer P., Bulet P., Michaut L., Lagueux M., Broekaert W. F., Hetru C., Hoffmann J. A.: J. Biol. Chem. 264, 33156, 1994.
15. Gilman A. G.: Ann. Rev. Biochem. 56, 615, 1987.
16. Gotz P., Boman H. G.: Insect immunity. w: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, G. A. Kerkut L. I. Gilbert (red.). Pergamon Press, Oxford 1985, s. 453.
17. Hara S., Yamakawa M.: Biochem. J. 310, 651, 1995.
18. Hara S., Yamakawa M.: J. Biochem. 270, 29923, 1995.
19. Hung S. Y., Boucias D. G., Vey A. J.: J. Invertebr. Pathol. 61, 179, 1993.
20. Hunt D. W. A.: Can. Entomol. 118, 837, 1986.
21. Huxham I. M., Lackie A. M., McCorkindale N. J.: J. Insect Physiol. 35, 97, 1989.
22. Iijima R., Kurata S., Natori S.: J. Biol. Chem. 268, 12055, 1993.
23. Jarosz J., Gliński Z.: Leksykon immunologii owadów. Wyd. PWN Warszawa 1996.
24. Kerwin J. L., Simmons C. A., Washino R. K.: J. Invertebr. Pathol. 47, 258, 1986.
25. Kerwin J. L.: Can. J. Microbiol. 30, 158, 1984.
26. Labandeira C. C., Sepkoski J. J. jr.: Science 261, 310, 1993.
27. Lackie A. M.: J. Cell Sci. 63, 181, 1983.
28. Levaschina E., Ohresser S., Bulet T. P.: Eur. J. Biochem. 233, 694, 1995.
29. Miranpuri G. S., Bidochka M. J., Khachatourians G. G.: J. Econ. Entomol. 84, 371, 1991.
30. Ochiai M., Aschida M.: J. Biol. Chem. 263, 12056, 1988.
31. Okada M., Natori S.: Biochem. J. 175, 5962, 1983.
32. Pendland J. C., Boucias D. G.: Eur. J. Cell Biol. 60, 322, 1993.
33. Pendland J. C., Lopez-Lastra C., Boucias D. G.: Mycologia 86, 327, 1994.
34. Poinar G. O., Thomas G. M.: Experientia 40, 578, 1984.
35. Poinar G. O., Turner B. C.: Exp. Mycol. 12, 91, 1988.
36. Polanowski A., Wilusz T., Blum M., Escoubas P., Schmidt J., Travis J.: Comp. Biochem. Physiol. 102B, 757, 1992.
37. Saito T., Aoki J.: Appl. Ent. Zool. 18, 225, 1983.
38. Smith R. J., Grula E. A.: J. Invertebr. Pathol. 39, 15, 1982.
39. Soderhall K., Rogener W., Soderhall I., Newton R. P., Ratcliffe N. A.: Insect Biochem. 18, 323, 1988.
40. St. Leger R. J.: The integument as a barrier to microbial infections. w: The Physiology of Insect Epidermis. A. Retnakaran, K. Binnington (red.). CSIRO, Australia 1991, s. 284.
41. St. Leger R. J.: Biology and mechanisms of invasions of Deuteromyces fungal pathogens. w: Parasites and Pathogens of Insects. vol. 2. N. C. Beckage, S. N. Thompson, B. A. Federici (red.). Academic Press, NY, London 1993, s. 211.
42. St. Leger R. J., Butt T. M., Staples R. C., Roberts D. W. J.: Gen. Microbiol. 136, 1779, 1990.
43. St. Leger R. J., Cooper R. M., Charnley A. K.: J. Invertebr. Pathol. 52, 459, 1988b.
44. St. Leger R. J., Laccetti L. B., Staples R. C., Roberts D. W.: J. Gen. Microbiol. 136, 1401, 1990.
45. St. Leger R. J., Roberts D. W., Staples R. C.: J. Gen. Microbiol. 135, 2141, 1989.
46. St. Leger R. J., Roberts D. W., Staples R. C.: Arch. Microbiol. 154, 518, 1990.
47. Sugumaran M.: Prophenoloxidase activation and insect immunity. w: Defense Molecules. R. Allan (red.). Lis. NY 1990, s. 437.
48. Watson D. W., Mullens B. A., Peterson J. J.: J. Invertebr. Pathol. 61, 10, 1993.
49. Wilding N., Mardell S. K., Brobgn D. J.: Ann. Appl. Biol. 108, 373, 1986.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin