

Znaczny wzrost w ostatnich dekadach liczby zabiegów transplantacyjnych, pacjentów z obniżoną odpornością, przypadków zakażenia wirusem HIV a także częstsza konieczność stosowania chemioterapii, spowodowały dramatyczny wzrost zachorowalności na grzybice u ludzi. Istnieje, więc pilna potrzeba opracowania nowych środków przeciwgrzybiczych. Ponieważ do infekcji najczęściej dochodzi poprzez wdychanie zarodników i/lub penetrację skóry przez inwazyjne strzępki, kluczem do zrozumienia strategii infekcji grzybiczych i do opracowania terapii, może być poznanie składu zarodników i strzępek, a zwłaszcza ich wyposażenia w enzymy i miktotoksyny odgrywające kluczową rolę w przebiegu infekcji grzybiczej.

Niektóre gatunki patogennych grzybów infekują zarówno ludzi, jak i owady, co umożliwia prowadzenie badań na znacznie tańszych modelach owadzych, które nie stwarzają problemów etycznych. Jednym z takich grzybów jest kosmopolityczny grzyb glebowy *Conidiobolus coronatus* (Entomophthorales), o którym wiadomo, że wywołuje grzybice (konidiobolomykozy) u szerokiego spektrum ssaków i owadów. *C. coronatus* cieszy się również rosnącym zainteresowaniem, jako potencjalny czynnik biokontroli szkodników owadzych ze względu na wysoce selektywne działanie: szybko i skutecznie zabija podatne gatunki owadów nie szkodząc gatunkom odpornym.

Chociaż owady i ssaki rozwinęły różne systemy obronne przeciwko infekcjom grzybowym, w obu przypadkach infekcja jest inicjowana przez zarodniki grzyba i strzępki inwazyjne, które pokonują bariery ochronne żywiciela (kutikula owadów i skóra ssaków) za pomocą enzymów degradujących ich główne składniki (białka, cukry i lipidy).

Owady podatne na infekcję są infekowane poprzez penetrację kutikuli przez strzępki inwazyjne powstałe z zarodników, które wykiełkowały na kutikuli. Penetracja zachodzi poprzez enzymatyczną degradację głównych składników kutikuli (białek, chityny i lipidów) przez proteazy, chitynazy i lipazy grzyba. Po zaatakowaniu jamy ciała żywiciela strzępki rozrastają się, ale nie zasiedlają narządów wewnętrznych z powodu szybkiej śmierci żywiciela spowodowanej przez toksyczne metabolity grzyba, które dezorganizują funkcjonowanie układu wydalniczego i systemu odpornościowego.

Podatność lub odporność różnych gatunków owadów na inwazję *C. coronatus* wynika z kilku czynników: budowy szkieletu zewnętrznego owada, składu kutikuli i sprawności układu odpornościowego. Zrozumienie mechanizmów odporności owadów na zakażenie *C. coronatus* ma ogromne znaczenie przy poszukiwaniu skutecznych metod zwalczania konidiobolomykozy u ssaków. Z naszych badań wynika, że skład lipidów kutikuli jest kluczowym czynnikiem decydującym o tym, czy dany gatunek owadów zostanie zainfekowany przez *C. coronatus*, czy też pozostanie nietknięty. Zakładamy, że substancje kutikularne chroniące owady przed infekcją *C. coronatus* mogą również chronić ssaki. Dlatego badania będą prowadzone na dwóch gatunkach owadów odpornych na *C. coronatus*: *Lucilia sericata* (Diptera) i *Dermestes ater* (Coleoptera). Analiza lipidów kutikularnych tych owadów została już przez nas wykonana, a wyniki są opublikowane.

W ramach projektu sprawdzimy wpływ substancji zidentyfikowanych w kutikuli tych owadów na stan fizjologiczny *C. coronatus* i jego patogeniczność. W koloniach grzyba hodowanego na pożywkach z dodatkiem badanych substancji zostaną określone następujące parametry: tempo wzrostu grzyba, osiągnięta biomasa, liczba zarodników oraz ich wirulencja. W zarodnikach, strzępkach i pożywkach po-inkubacyjnych (zawierających substancje uwolnione przez rosnącego grzyba) zmierzona zostanie aktywność enzymów degradujących kutikulę (elastaza, *N*-acetyloglukozaminidaza, lipaza) oraz wykrywane będą miktotoksyny. Wykorzystane zostaną następujące metody: cytometria przepływową, spektrofotometria, spektrofotometria, ELISA, GC-MS oraz LC-MS.

Zaplanowane badania są innowacyjne i pozwolą na poszerzenie wiedzy w różnych dziedzinach nauki, w tym w mikologii, biochemii, entomologii i kontroli owadów szkodliwych. Model owad-grzyb jest stosowany w badaniach dotyczących kontrolowania populacji owadów szkodliwych przez grzyby entomopatogenne, ale może również dostarczyć nowych pomysłów zwalczania grzybicy u ludzi, zwierząt gospodarskich i domowych. Uzyskane wyniki będą miały ogromne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów regulujących patogenność *C. coronatus* oraz sposobów ochrony odpornych owadów przed atakiem grzybów. Uzyskane wyniki mogą być wykorzystane do projektowania nowych metod zwalczania szkodników oraz do opracowywania nowych metod zwalczania konidiobolomykozy u ludzi i zwierząt.