1283-o

بررسی سیستم دفاعی *Spodoptera exigua* در مقابل نماتود *Steinernema carpocapsae* و باکتری همزیست *Xenorhabdus nematophila* و برخی عوامل دخیل در زهرآگینی

ریحانه درسویی و جواد کریمی

آزمایشگاه پاتولوژی و کنترل بیولوژیک حشرات، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
r.darsouei@gmail.com Darsouei@stu.um.ac.ir

نماتود بیمارگر *Steinernema carpocapsae* Weiser دارای رابطه همزیستی با باکتری *Xenorhabdus nematophila* می‌باشد. بعد از ورود نماتود به‌همولنف میزبان باکتری همزیست آزادشده و سیستم ایمنی میزبان را سرکوب می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر، سیستم ایمنی لارو پروانه‌ی برگ‌خوار چغندرقند *Spodoptera exigua* Hübner در مواجهه با نماتود بیمارگر حشرات *Steinernema carpocapsae*، باکتری همزیستش *Xenorhabdus nematophila* و برخی عوامل دخیل در زهرآگینی مورد بررسی قرار گرفت. در اینجا تعداد کل سلول-های خونی، شمارش افتراقی، فعالیت‌های آنزیم‌های پروتئاز، فسفولیپاز A2 (PLA_2)، فنل‌اکسیداز (PO) و بیان پپتیدهای ضدمیکروبی (AMPs) آتاسین، سکروپین، اسپودوپتریسین در نیم ۲، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ ساعت پس از تزریق بررسی شد. لاروهای عفونت‌زای نماتود توسط لارو پروانه‌ی برگ‌خوار چغندرقند شناسایی شدند ولی هیچ هموسیتی به‌پوسته‌ی نماتودها متصل نشد. این نماتود توانست تعداد سلول‌های خونی میزبان را ۱۲ ساعت پس از تزریق کاهش دهد. فعالیت آنزیم فنل اکسیداز و بیان پپتیدهای ضدمیکروبی به‌ترتیب در ۴ و ۸ ساعت پس از تزریق سرکوب شدند. به‌طور تقریبی، مهار سیستم ایمنی با زمان رهاسازی باکتری همزیست (۴ تا ۸ ساعت پس از ورود نماتود به-همولنف میزبان) مطابقت داشت. برای بررسی دقیق‌تر نقش نماتود و باکتری در سرکوب سیستم ایمنی، سه حالت نماتود منوزنیک، نماتود آگزنیک و باکتری همزیست مقایسه شد. نتایج نشان داد نماتود آگزنیک، ضعیف‌ترین عامل در مواجهه با سیستم ایمنی لارو *S. exigua* می‌باشد. درحالی‌که باکتری همزیست برای سرکوب سیستم ایمنی، توانی بیش‌تر نسبت به‌نماتود میزبانش دارد. به‌دلیل نقش مهم باکتری در سرکوب سیستم ایمنی، اثر باکتری همزیست با جزئیاتی بیش‌تر مورد مطالعه قرارگرفت. پروتئین‌های غشای خارجی (OMPs) و توکسین پیلین باکتری *X. nematophila* جدا و اثر آن‌ها روی دفاع سلولی و هومورال بررسی شد. در ابتدای تزریق، پروتئین‌های غشای خارجی باکتری *X. nematophila* تعداد سلول‌های خونی، فعالیت آنزیم‌های دفاعی و بیان پپتیدهای ضدمیکروبی را افزایش دادند. پس از آن هموسیت‌ها تخریب، میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی کاهش و بیان پپتیدهای ضدمیکروبی سرکوب شد. در لاروهای تیمارشده با توکسین پیلین تراکم هموسیت‌ها و درصد گرانولوسیت‌ها از ابتدای تزریق نسبت به‌تیمار شاهد منفی کم‌تر بود. با این‌حال، این توکسین توان

Physiologic defense of *Spodoptera exigua* against entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* and its symbiotic bacterium, *Xenorhabdus nematophila* and exploring some of involved factors in virulence

Reyhaneh Darsouei and Javad Karimi

BioControl and Insect Pathology Lab., Department of Plant Protection, School of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
R.darsouei@gmail.com; Darsouei@stu.um.ac.ir

Steinernema carpocapsae (Weiser) has a symbiotic relationship with *Xenorhabdus nematophila*. The symbiotic bacteria delivered into the insect hemocoel by the nematode cause immunodepression of the target insect. In current study immune system of *Spodoptera exigua* Hübner against entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*, its symbiotic bacterium *Xenorhabdus nematophila* and some of involved factors in virulence were surveyed. Here, we evaluated total haemocytes count (THC), differential haemocytes count (DHC), activity of protease, phospholipase A2 (A2), phenoloxidase (PO) enzymes, expression of antimicrobial peptides (AMPs) attacin, cecropin, spodoptericin at specified intervals 0.5, 2, 4, 8, 12 and 16 hour post-injection (hpi). The infective juvenile larvae (IJs) were identified by *S. exigua* as a foreign agent but did not attach any haemocyte to nematode cuticle. *Steinernema carpocapsae* decreased haemocytes density by 12 hpi. The volume activity of PO and AMPs expression was suppressed by 4 and 8 hpi, respectively. The suppression of immune system was according to releasing time of symbiotic bacteria (4-8 hour after nematodes penetration into the haemocoel). Subsequently role of nematode and symbiotic bacteria in the suppression of immune system, three status including monoxenic nematode, axenic nematode and symbiotic bacteria were compared. The obtained results indicated the axenic nematode had weak defense response against immune system of *S. exigua*, while symbiotic bacteria was able to suppress the immune system and its ability was more than those against the nematode. In addition, the dead bacterium was able to suppress the immune system. According to the observations, the effect of the symbiotic bacteria on the immune system was explored more accurate. The outer membrane proteins (OMPs) of symbiotic bacteria were isolated and their effects on corresponding defense elements of *S. exigua* larvae were surveyed. In initial times post-injection OMPs increased haemocytes populations and activated defensive enzymes and AMPs expression. Then, haemocytes were destroyed and the enzymes activity and AMP expression suppressed. At last, pilin protein was injected into the haemocle of *S. exigua*. Total haemocytes count and granulocyte percentage were less than negative control by 0.5 to 16 hpi. But, pilin protein was not able to suppression of PO activity. Pilin protein induced expression of attacin, cecropin and spodoptericin and after a few hours decreased their expression. The study increased our knowledge about insect immune system against entomopathogenic nematode and its symbiotic bacteria. The gathered data highlighted the role of symbiotic bacteria during defense process of insect.

Keywords: Antimicrobial peptides, Haemocytes, Immune system, Insect pathology, Phenoloxidase