

ENTOMOPATOGENICZNE GRZYBY I ICH ZNACZENIE BIOCENOTYCZNE

Beata Zimowska*, Ewa Dorota Król

Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii i Mykologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wpłynęło w czerwcu, zaakceptowano w sierpniu 2019 r.

Streszczenie: Naturalnie występujące entomopatogeny są ważnymi czynnikami regulacyjnymi populacji owadów. Wśród nich ważną rolę odgrywają grzyby entomopatogeniczne. Zakażenie owadów przez pasożytnicze grzyby następuje poprzez penetrację powłok żywiciela. Śmierć gospodarza jest wynikiem zniszczenia tkanek, wyczerpania składników odżywczych oraz produkcji toksyn. Najnowsze badania pokazują, że grzyby owadobójcze to nie tylko patogeny owadów, ale odgrywają również dodatkowe role w ekosystemach jako endofity, gatunki antagonistyczne oraz wspomagające wzrost roślin i kolonizację ryzosfery. Te nowo poznane mechanizmy oddziaływania stwarzają dodatkowe możliwości ich wykorzystania m.in. w integrowanej ochronie roślin. W tym artykule dokonano przeglądu literatury polskiej i światowej dotyczącej grzybów entomopatogenicznych. Przedstawiono również możliwe mechanizmy ochrony roślin wynikające z uzdolnień endofitycznych grzybów entomopatogenicznych i omówiono możliwości ich zastosowania w ochronie przed szkodnikami i patogenami.

Wstęp. 2. Rys historyczny i taksonomiczny. 3. Aspekty ekologiczne. 4. Zastosowanie grzybów entomopatogenicznych. 5. Perspektywy integrowanej ochrony roślin. 6. Podsumowanie

ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND THEIR BIOCENOTIC IMPORTANCE

Abstract: Naturally occurring entomopathogens are important regulatory factors of insect populations. Among them, entomopathogenic fungi play a meaningful role. The invasion of insects by parasitic fungi occurs through penetration of the host integument. Death of the host is a result of tissue destruction, exhaustion of nutrients, and the production of toxins. Many recent studies show that entomopathogenic fungi are not only considered as insect pathogens, but also play additional roles in nature, including endophytism, plant disease antagonism, plant growth promotion, and rhizosphere colonization. These newly understood attributes provide possibilities to use fungi in multiple roles. Such additional roles recently-discovered to be played by entomopathogenic fungi provide opportunities for multiple uses of these fungi in integrated pest management strategies. This article reviews the literature currently available on entomopathogenic fungi. It also addresses the possible mechanisms of protection conferred by endophytic fungal entomopathogens and explores the potential use of these fungi as dual microbial control agents against both insect and pathogen pests.

Introduction. 2. Historical and taxonomical notes. 3. Ecological aspects. 4. Use of entomopathogenic fungi. 5. Prospects in integrated pest management. 6. Conclusions

Słowa kluczowe: entomopatogeniczne grzyby, endofity, integrowana ochrona roślin, mykoinsektycydy

Key words: entomopathogenic fungi, endophytes, integrated pest management, mycoinsecticides

1. Wstęp

Entomopatogeniczne grzyby są prawdopodobnie najbardziej znanymi mikroorganizmami, które infekują szkodniki roślin. Szacuje się, że powodują one około 60% chorób epizootycznych owadów i innych stawonogów. Terminem „grzyby entomopatogeniczne” w najszerszym ujęciu określać można gatunki organizmów wykazujących w swoim rozwoju właściwości chorobotwórcze lub bezpośrednie zależności troficzne o charakterze pasożytniczym względem żywych stawonogów, głównie owadów i roztoczy. Ich rozwój prowadzi do zakłóceń funkcji fizjologicznych u gospodarzy, a w konsekwencji do ich śmierci [10, 76, 91].

Globalizacja rynków i intensyfikacja produkcji w rolnictwie coraz bardziej wskazują na potrzebę opraco-

wania działań łagodzących negatywne skutki dla środowiska i bezpieczeństwa konsumentów. Straty spowodowane przez szkodniki, choroby roślin i chwasty nadal stanowią istotną przeszkodę w zwiększaniu produkcji rolnej, pomimo znacznego wzrostu stosowania pestycydów. Od drugiej wojny światowej stosowanie syntetycznych środków ochrony roślin stanowi podstawowy system kontroli patogenów i pasożytów roślin uprawnych, mimo świadomości skutków ubocznych oraz szkodliwości dla zdrowia ludzkiego i środowiska. W wielu krajach uprzemysłowionych, od pewnego czasu, strategie ochrony roślin zostały ukierunkowane na wykorzystanie roślin transgenicznych, które charakteryzują się odpornością na owady i inne czynniki biotyczne. Działania te zmierzają do ograniczenia stosowania preparatów chemicznych. Całkowite systemowe podejście

* Autor korespondencyjny: Beata Zimowska, Katedra Ochrony Roślin, Zakład Fitopatologii i Mykologii, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie K. St. Leszczyńskiego 7, 20-068 Lublin; e-mail: beata.zimowska@up.lublin.pl

do zmniejszenia stosowania środków chemicznych w rolnictwie powinno opierać się na lepszym zrozumieniu zależności panujących w różnych ekosystemach i modyfikacji krajobrazu w celu stworzenia odpowiednich warunków dla rozwoju mikroorganizmów pożytecznych w środowisku oraz zachowania bioróżnorodności [77, 92].

Wykorzystanie entomopatogenicznych grzybów mogłoby stanowić podstawową metodę ochrony roślin, opartą na ich uzdolnieniach i różnych rolach jakie mogą odgrywać w przyrodzie. Wiele gatunków spośród grzybów owadobójczych oddziałują endofitycznie i/lub w ryzosferze, zachowuje się jak antagoniści w stosunku do różnych czynników patogenicznych oraz wspomaga wzrost i rozwój roślin. Szersza wiedza na temat oddziaływania grzybów owadobójczych i lepsze zrozumienie interakcji pasożyt-żywiciel-środowisko może ułatwić skuteczniejsze wykorzystanie grzybów w zwalczaniu szkodników. Wiadomo bowiem, że aktywność biologiczna grzybów owadobójczych uzależniona jest m.in. od ich wirulencji, wilgotności powietrza, temperatury, pory roku, obecności antagonistów, dostępności gospodarzy oraz struktury i sposobu użytkowania gleby, w której występują [8, 77, 88, 90, 91].

2. Rys historyczny i taksonomiczny

Pierwsze badania dotyczące grzybów entomopatogenicznych zostały opracowane na początku XIX wieku. Zainspirowany potrzebą kontrolowania epizoozji jedwabników, przyrodnik Agostino Bassi zidentyfikował w 1835 roku czynnik wywołujący chorobę, nazwany później *Beauveria bassiana* [10]. Odkrycie, że grzyb jest również zdolny do infekowania innych owadów [5], zainicjowało stosowanie entomopatogenów do zwalczania szkodników przez innych wybitnych naukowców, takich jak Pasteur [54] i Le Conte [42]. Pod koniec XIX wieku w Rosji Miecznikow przeprowadził badania nad „zieloną muskardyną”, chorobą chrząszczy pszennych (*Anisoplia austriaca*) i zidentyfikował *Entomophthora anisopliae* (*Metarhizium anisopliae*) jako przyczynę tej choroby. Kilka lat później Krassilcznik [41] wyprodukował pierwszy biopreparat zawierający zarodniki *M. anisopliae*, co spowodowało wzrost zainteresowania grzybami owadobójczymi [10]. Patogeny te są najczęściej definiowane jako grzyby, które znajduje się na obumarłych owadach i innych stawonogach. Z tak szerokiego znaczenia wynika, że liczba gatunków rośnie w wyniku licznych badań lub sporadycznych izolacji. Dlatego też, chociaż podjęto próby oszacowania liczby gatunków (około 1000) według St. Leger i Wang [80], trudno jednoznacznie ocenić wielkość tej grupy mikroorganizmów. Sosnowska [77] podaje, że na świecie znanych

jest ponad 1200 gatunków grzybów owadobójczych, z czego w Polsce poznano 230.

Wprowadzenie technik molekularnych do identyfikacji, przede wszystkim sekwencjonowanie DNA, miało znaczący wpływ na klasyfikację grzybów owadobójczych, rzucając światło na związki filogenetyczne między różnymi grupami taksonomicznymi. Umożliwiło to ustalenie, że entomopatogeny nie stanowią oddzielnej grupy, przeciwnie należą do różnych jednostek taksonomicznych. Większość grzybów entomopatogenicznych klasyfikowana jest w 2 rzędach tj. *Entomophthorales* (*Zygomycota*) i *Hypocreales* (*Ascomycota*) [8]. Do pierwszego rzędu należą, takie rodzaje jak: *Entomophthora*, *Entomophaga*, *Erynia*, *Neozygites*, *Pandora* i *Conidiobolus*, które reprezentują głównie grzyby monofagiczne i obligatoryjne patogeny małej liczby stawonogów. Z kolei do *Hypocreales* należą przede wszystkim polifagiczne gatunki grzybów, znane ze swoich zdolności patogenicznych w stosunku do różnych gatunków owadów [10]. Typowy rodzaj *Cordyceps*, obejmuje wiele gatunków znanych z wytwarzania pod koniec cyklu, prowadzonego kosztem larw owadów, charakterystycznych wydłużonych maczug wystających z powierzchni gleby, które są zbierane i stosowane w medycynie tradycyjnej w Chinach i innych krajach azjatyckich [55]. Do *Cordycipitaceae* przypisano również gatunki z rodzaju *Culicinomyces*, zasadniczo związane z larwami komarów [64], natomiast do oddzielnej rodziny (*Ophiocordycipitaceae*) rodzaje *Ophiocordyceps*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Tolypocladium* i *Polycephalomyces* [36] i *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) [46]. Z kolei w obrębie rodziny *Clavicipitaceae* znajduje się rodzaj *Metarhizium*, z gatunkami *M. anisopliae* i inne gatunki stosowane w ochronie biologicznej, takie jak: *M. acridum*, *M. brunneum*, *M. robertsii* i *M. rileyi* (*Nomuraea rileyi*). Do tej samej rodziny należą także rodzaje *Pochonia*, *Metacordyceps*, *Torribiella*, *Regiocrella* i *Hypocrella*, przy czym ten ostatni obejmuje kilka gatunków lepiej znanych w stadium konidialnym (np. *Aschersonia aleyrodis*) [85].

Badania molekularne wykazały także, że inne grzyby entomopatogeniczne są filogenetycznie podobne do gatunków z rodziny *Cordycipitaceae* i dlatego należy je przypisać do tej rodziny. Wśród nich znalazł się rodzaj *Akanthomyces*, do którego niedawno przypisano kilka gatunków z rodzin *Lecanicillium* [37], *Simplicillium*, *Gibellula*, *Beauveria*, z gatunkami *B. bassiana*, *B. brongniartii* i *B. tenella* [61] oraz gatunki *Isaria* tj. *I. farinosa* (*Paecilomyces farinosus*) i *I. fumosorosea* (*P. fumosoroseus*).

Gatunki entomopatogeniczne również występują w rodzajach z typu *Ascomycota*, takich: *Ascospaera* (*Eurotiomycetes*, *Eurotiales*), *Myriangium* (*Dothideomycetes*, *Myriangiales*) [15], *Podonectria* (*Dothideomycetes*, *Tubeufiales*) [65] oraz *Sporothrix* (*Sordariomycetes*,

Ophiostomatales), które ostatnio nabrały większego znaczenia [14]. Do gatunków o mniejszych właściwościach entomopatogenicznych należą: *Aspergillus flavus* [32], *Clonostachys rosea* oraz gatunki należące do rodzajów: *Fusarium* [84], *Acremonium* [81], *Cladosporium* [1] i *Alternaria* [34] oraz kilka innych gatunków z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* [12].

3. Aspekty ekologiczne

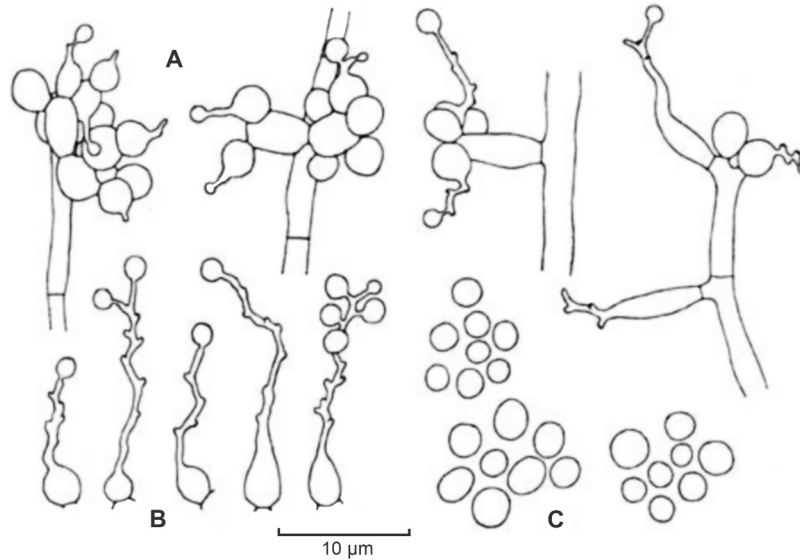
Cykl rozwojowy patogenów z typów *Zygomycota* i *Ascomycota* jest zróżnicowany, ale warunkiem ich przetrwania i rozprzestrzeniania jest zakażenie i uśmiercenie żywiciela. Entomopatogeniczne grzyby infekują swoich gospodarzy za pomocą zarodników, które rozprzestrzeniają się w otaczającym środowisku, tak powszechnie, że ich obecność została również udokumentowana na powłokach pozornie zdrowych osobników [21]. Infekcja jest skuteczna przy odpowiedniej temperaturze i wilgotności powietrza oraz w momencie bezpośredniego kontaktu zarodnika grzyba z ciałem żywiciela. Zarodniki grzybów z typu *Ascomycota* przenoszone są z wiatrem, a kiełkują tworząc struktury adhezyjne w postaci przysawek. Następnie strzępki infekcyjne przenikają przez otwory ciała lub egzozskielec, przy udziale enzymów degradujących naskórek [11]. Po osiągnięciu hemocelu grzyb pokonuje obronę immunologiczną gospodarza, używając broni biochemicznej [88, 89]. Późniejsza kolonizacja tkanek zachodzi w różny sposób w zależności od rodzaju interakcji. Można wyróżnić trzy typy interakcji: biotrofię, w której grzyb odżywia się żywymi komórkami; nekrotrofię, w której grzyb zasadniczo wykorzystuje martwe tkanki i nieco bardziej powszechną hemibiotrofię, gdy grzyb początkowo pasożytuje na żywych tkankach, a następnie korzysta z martwych tkanek. Po śmierci gospodarza grzyb tworzy na zewnątrz oznaki etiologiczne w postaci zarodników, które często pozostają przymocowane do podłoża przez ryzoidy wyłaniające się z powierzchni brzusznej lub z aparatu policzkowego. W wielu przypadkach udokumentowano produkcję i rozproszenie zarodników z ciała wciąż żywych owadów [67].

Do najważniejszych przedstawicieli grzybów owadobójczych z typu *Ascomycota* należą gatunki z rodzajów: *Beauveria*, *Isaria*, *Metarhizium* oraz *Lecanicillium*. Rodzaj *Beauveria* charakteryzuje się białą lub jasno zabarwioną grzybnią z odcieniem żółtym lub lekko różowym, o obficie rozwiniętych strzępkach substratowych i powietrznych. Konidiofory z pojedynczymi fialidami lub skupieniami fialid o kilkakrotnie wygiętej szyjce, na przecięciach której powstają jednokomórkowe, hialitowe, owalne lub elipsoidalne konidia. Gatunki w obrębie rodzaju różnią się głównie wielkością i kształtem konidiów [13, 16, 98].

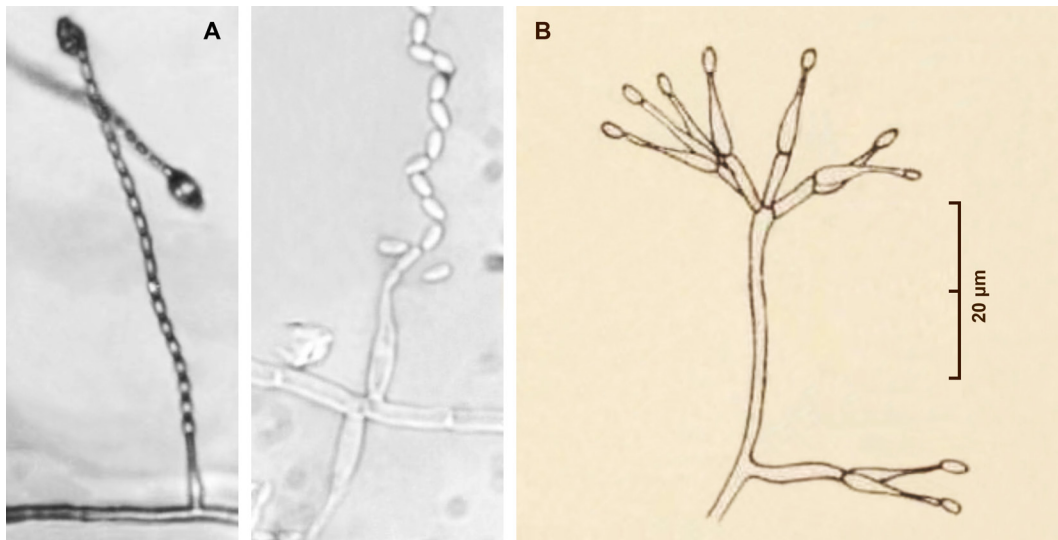
Jednym z najczęściej opisywanych gatunków jest *B. bassiana*. Kolonie tego gatunku osiągają średnicę 6–23 mm po 8 dniach hodowli na podłożach agarowych. Grzybnia tworzy murawkę wełnistą, białą, do 2 mm wysokości. W czasie zarodnikowania jest ona proszkowata do wapnowanej, biała lub kremowa. Dolna strona kolonii bezbarwna. Niektóre szczepy tworzą kolonie kłaczkowe lub o strukturze waty ze strzępkami grzybni o wysokości do 1 cm. Na strzępkach powietrznych powstają pojedynczo lub w rzadkich okółkach komórki konidiotwórcze (fialidy), które mogą także tworzyć kuliste skupienia lub pęczki. Fialidy są szeroko butelkowate lub mają postać wydłużonych rozgałęzień, zwężonych u szczytu w ciekłą szyjkę, na której tworzą się pierwsze konidia. Następne konidium wyrasta ukośnie z szyjki tuż przed pierwszym konidium, które jest przez nie odsuwane na bok. Po kilkakrotnie powtórzonym procesie na końcu fialidy powstaje zygzakowato wygięta szyjka z najstarszym konidium na szczycie. Konidia odpadają łatwo, natomiast zygzakowata szyjka pozostaje niezmieniona. Czasami fialidy tworzą się w dwóch warstwach nad sobą (pierwotne i wtórne), wówczas ich wielkość, a głównie długość znacznie się zwiększa. Pierwsze, kuliste mają wymiary 1,5–3,5 μm , a wtórne, walcowate 4–14 \times 2–3 μm . Konidia są gładkie, hialitowe, o średnicy 2–3 μm (ryc. 1). *B. bassiana* tworzy charakterystyczny biały nalot zarodników na powierzchni martwych owadów zwany białą muskardyną.

Grzyby z rodzaju *Isaria* (dawniej *Paecilomyces* spp.) tworzą kolonie wełniste, prószyste, czasami nieco sznurowate. U gatunków pasożytujących na owadach formują się wyraźne koreamie tj. mniej lub bardziej zwarte pęczki trzonków konidialnych, w górnej części rozpiętych i zakończonych zarodnikami konidialnymi. Grzybnia biała, żółta, żółtobrunatna, fioletowa, czasami jasnozielona. Konidia powstają na fialidach pojedynczych lub znajdujących się w okółkach na pędzelnikowatym konidioforze, czym przypominają gatunki rodzaju *Penicillium*. Konidia powstają w łańcuchach. Niektóre gatunki tworzą zarodniki przetrwalnikowe – chlamidospory. Do przedstawicieli tego rodzaju należy m.in. *Isaria farinosa* (syn. *Paecilomyces farinosus*). Kolonie tego grzyba tworzą obfitą i wysoką grzybnię, wełnistą lub watowatą. Starsza kultura żółknie lub tworzy białe, żółte lub pomarańczowe, długie do 1 cm i wąskie koreamie. Rewers kolonii początkowo bezbarwny, potem żółknie lub staje się pomarańczowy. Konidiofory mają postać albo pojedynczych fialid o wymiarach 5–15 \times 0,8–2 μm , albo pojedynczych lub złożonych okółków. Konidia gładkie, elipsoidalne, o wymiarach 2 \times 3 \times 1–1,8 μm ., tworzą się w długich łańcuchach [13, 16, 98] (ryc. 2). *Isaria* wywołuje różową muskardynę.

Gatunek *Metarhizium anisopliae* tworzy początkowo białe kolonie z żółtawym odcieniem, które podczas



Ryc. 1. *Beauveria bassiana*, trzonki konidialne A, komórki konidiotwórcze B, konidia C. Według De Hong 1972 [13].



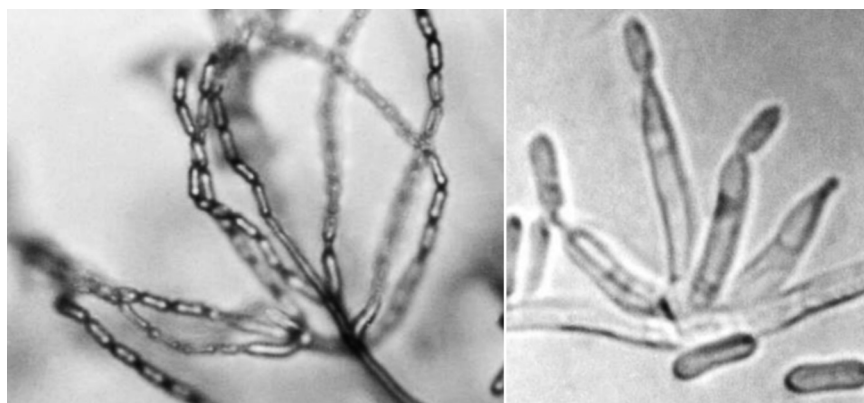
Ryc. 2. *Isaria farinosa*, fialidy i zarodniki konidialne w łańcuchach. A. Według Watanabe 2010 [98], konidiofor B. Według Fassatiowa 1983 [16].

zarodnikowania przybierają zielonkawe zabarwienie. Konidiofory o długości 40–80 µm, często powstają w skupieniach tworząc sporodochia. Fialidy pojedyncze lub skupione, na wierzchołku zaokrąglone. Fialidy o wymiarach 9,7–35,3 × 2,1–2,7 µm. Konidia powstają w długich łańcuchach, są bezbarwne, cylindryczne, 1-komórkowe o wymiarach 3,7–10 × 0,7–1,7 µm [98], (ryc. 3). *M. anisopliae* tworzący zieloną muskardynę.

Z kolei gatunki rodzaju *Lecanicillium* (syn. *Verticillium*) tworzą murawki białe lub jasne, przeważnie z obfitymi strzępkami powietrznymi, często także ze strzępkami substratowymi. Konidiofory proste, rozgałęzione okółkowo, pojedyncze odgałęzienia i fialidy są od siebie odległe. Konidia jednokomórkowe, głównie elipsoidalne lub o owalnym kształcie, pozostające jakiś czas

na szczycie fialidy połączone śluzem w rodzaj główki. Najczęściej opisywanym entomopatogenem jest *Lecanicillium lecanii* (syn. *Verticillium lecanii*). Kolonie tego grzyba mają barwę białą lub nieco żółtawą, o strukturze waty lub aksamitną, od dołu żółtawą. Na strzępkach formują się silnie wydłużone i ostre fialidy o wymiarach 11,2–30 × 1,7–2,5 µm. Tworzą się one pojedynczo lub w rzadkich okółkach. Na zakończeniu fiali grupują się konidia tworząc skupienia w kształcie główki o średnicy 5–15 µm. Konidia są hialitowe, wydłużone owalnie o wymiarach 3,7–5,5 × 1,8–2,9 µm (ryc. 4).

Grzyby owadomorkowe z typu *Zygomycota* wytwarzają 2 typy zarodników konidialnych tzw. konidia pierwotne i wtórne. Oba rodzaje zarodników odrzucane są aktywnie dzięki rosnącemu ciśnieniu osmotycznemu



Ryc. 3. Konidiofory i konidia *Metarhizium anisopliae*, Według Watanabe 2010 [98].



Ryc. 4. Konidiofory i konidia *V. lecanii* A. Według Watanabe 2010 [98], B. Według Fassatiowa 1983 [16].

w zarodniku i komórce zarodnikotwórczej. Grzyby te mogą także wytwarzać zarodniki przetrwalnikowe, co pozwala im przetrwać niekorzystne warunki lub brak żywiciela. Dzięki temu synchronizują swój rozwój z rozwojem owadów [23].

Grzyby entomopatogeniczne wykazują różnorodne rzystosowania do pasożytowania na owadach, uwzględniając nie tylko zdolność do przewyciężenia obrony immunologicznej i uzyskania pożywienia, ale także do mniej zbadanych reakcji behawioralnych. Wykazano, że niektóre grzyby zmieniają zachowanie zarażonych owadów, na przykład poprzez stymulowanie ich do wspinania się na szczyt roślin, co ma ułatwiać rozproszenie zarodników. Pod tym względem więcej badań przeprowadzono dla zakażeń wywołanych przez grzyby z rzędu *Entomophthorales* niż przez gatunki z *Hypocreales* [66]. Przykładem obrazującym w jaki sposób entomopatogeny wpływają na behawior owadów jest *Ophiocordyceps unilateralis*. Grzyb ten powoduje, że zarażone mrówki wspinają się na rośliny i umierając zaciskają szczęki, mocując jednocześnie ciało w położeniu ułatwiającym uwalnianie zarodników [3]. W wielu przypadkach większa ekspozycja na zarodniki grzybów entomopatogennych wynika z naturalnego zachowania owada. Na przykład dojrzałe larwy *Lymantria* mają tendencję do koncentracji w dolnej części roślin lub na ziemi, gdzie kontakt z *Entomophaga maimaiga* jest najbardziej prawdopodobny [23]. Mogą występować również odwrotne sytuacje. Na przykład mszyca gro-

chowa wykazuje tendencję do oddalania się od kolonii, gdy jest zakażona *Pandora neoaphidis*. Takie zachowanie może stanowić zarówno korzyść dla kolonii mszyc, zmniejszając do pewnego stopnia postęp epizoocji, jak i dla grzyba, którego zarodniki zostaną uwolnione na większą odległość, tworząc potencjał dla lepszego rozprzestrzeniania [28].

Jednocześnie różne gatunki owadów wykształciły szereg przystosowań w celu skutecznej obrony przed entomopatogenami. Postawę behawioralną mającą na celu unikanie pewnych entomopatogenów udokumentowano m.in. u dziubałka gajowego [48] i biedronki siedmiokropki [50], które unikają zakażenia przez *B. assiana*, podczas gdy australijski termity *Coptotermes lacteus* ma tendencję do ucieczki przed *M. anisopliae* [81]. Udowodniono także, że owady w obronie przed zakażeniem mogą wytwarzać różne związki chemiczne na powierzchni oskórka, które hamują kiełkowanie zarodników [7]. Chociaż specyficzny mechanizm leżący u podstaw tego zachowania nie jest znany, te i inne dowody wskazują na zdolność niektórych owadów do rozpoznawania patogenicznych grzybów.

W rzeczywistości zależności ekologiczne grzybów entomopatogenicznych wykraczają daleko poza interakcje z owadami i dotyczą także roślin. W glebie są szeroko rozpowszechnione w ryzosferze, posiadając specyficzną zdolność do współistnienia w tym środowisku z wieloma innymi mikroorganizmami, które w kategoriach naukowych definiuje się jako

„kompetencje” [79]. Podkreśla to zatem, jak wiele entomopatogenów jest w stanie przetrwać w bliskim kontakcie z roślinami, zapewniając im korzyść w przypadku jakiegokolwiek ataku szkodników. Powiązanie to staje się jeszcze bardziej istotne, jeśli weźmiemy pod uwagę, że wiele entomopatogennych grzybów występujących w ryzosferze posiada zdolność do kolonizacji roślin endofitycznie, co dodatkowo zwiększa ich potencjał ochronny. Oczywiście zakres, w jakim zjawisko to nabiera znaczenia, zależy od wpływu wielu czynników biotycznych i abiotycznych. Na uwagę zasługuje również zdolność przenoszenia pionowego (tj. przez nasiona), co zostało udowodnione w przypadku *B. bassiana* na sośnie kalifornijskiej [43], sugeruje to jeszcze bardziej specyficzną adaptację, przynajmniej w przypadku niektórych gatunków roślin.

Pierwsze doniesienia na temat endofitycznego występowania grzybów entomopatogenicznych pojawiały się sporadycznie, jednak wkrótce informacje o endofitycznym zasiedlaniu różnych gatunków roślin przez te mikroorganizmy stało się coraz bardziej powszechne [103]. W Stanach Zjednoczonych endofityczne szczepy *B. bassiana* zidentyfikowano na roślinach kawy arabskiej [56], pomidorze zwyczajnym [52], kakaowcu właściwym [57] oraz kukurydzy zwyczajnej [68]. W Kolumbii *M. anisopliae* endofitycznie zasiedlał rośliny manioku jadalnego [37] oraz fasoli zwyczajnej [52], a w Niemczech bobu [2]. Powyższe fakty spowodowały, że to co przez długi czas uznawano za coś więcej niż pojedyncze zjawisko ekologiczne, przekształciło się w prawdziwą strategię kontroli biologicznej. Wydaje się zatem, że możliwe jest zapewnienie trwałej ochrony roślin poprzez traktowanie ich w czasie siewu lub uprawy szczepami endofitycznymi zdolnymi do rozwoju w tkankach roślin i działającymi jak naturalna broń w miejscach ataku fitofagów [59].

Ochronne właściwości szczepów endofitycznych przed różnymi czynnikami fitopatogenicznymi mogą przejawiać się w różny sposób. Przykładem może być kilka gatunków z rodzaju *Akanthomyces* (*Lecanicillium*), aktywnych jednocześnie przeciwko mszycom i mączniakowi [40] lub *L. lecanii*, który oprócz owadów może ograniczać rozwój grzyba rdzawnikowego (*Hemileia vastatrix*) [95]. Aktywność *I. fumosorosea* stwierdzono w stosunku do mączniaka dyniowatych [35]. Wykazano, że szczepy *B. bassiana* hamują zgniliznę sadzonek pomidorów i bawełny powodowaną przez grzyby *Rhizoctonia solani* i *Pythium myriotylum*, w tym drugim przypadku działając jako prawdziwy mykopasożyt [52]. W przypadku bawełny, endofityczne szczepy *B. bassiana* były w stanie złagodzić objawy spowodowane przez bakterię *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* [22]. Inne pozytywne efekty osłabienia objawów odnotowano w stosunku do mączniaka rzekomego winorośli [27], a nawet na roślinach dyni dotkniętych

wirusem mozaiki żółtej cukinii (*Zucchini yellow mosaic virus* – ZYMV). Zaobserwowano, że szczepy *B. bassiana* i *Lecanicillium* spp. zasiedlające tkanki palm daktylowych stymulują syntezę białek zaangażowanych w reakcję na stres biotyczny [19].

Innym mechanizmem, dzięki któremu grzyby entomopatogeniczne mogą pozytywnie wpływać na reakcje obronne roślin, jest stymulacja produkcji fitoaleksyn. Zjawisko to zaobserwowano u roślin soi zaszczepionych *M. anisopliae*, w których stwierdzono znaczny wzrost syntezy izoflawonoidów [38]. Ponadto, oprócz ochrony przed czynnikami biotycznymi, endofityczne grzyby entomopatogeniczne mogą mieć działanie wspomagające wzrost roślin dzięki uwalnianiu sideroforów i fitohormonów [38]. *Metarhizium robertsii* jest w stanie ponownie włączyć część związków azotu pochodzących z degradacji zabitych owadów i udostępnić go roślinom [70].

Większość dostępnych danych eksperymentalnych na temat korzyści wynikających z zasiedlania tkanek roślin przez grzyby entomopatogeniczne odnosi się do działania pojedynczych szczepów. Istnieje zatem potrzeba bardziej szczegółowych badań dotyczących interakcji różnych szczepów, które mogłyby działać synergistycznie [71].

4. Zastosowanie grzybów entomopatogenicznych

Mykopestycydy definiuje się jako produkty oparte na propagulach grzybów, przeznaczone do zwalczania szkodników za pomocą aplikacji inokulacyjnych. W przeciwieństwie do preparatów opartych na bakteriach i wirusach, które mogą działać tylko po ich spożyciu, większość mykopestycydów działa poprzez kontakt, dzięki adaptacyjnym mechanizmom biochemicznym i fizjologicznym, które obejmują tworzenie struktur zakaźnych, wytwarzanie proteaz i lipaz pozakomórkowo oraz toksyn. Dotychczas opracowano wiele produktów komercyjnych, których składnik aktywny reprezentuje co najmniej jeden z gatunków grzybów, głównie *Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium* spp. i *Metarhizium* spp. [76, 77].

Jak dotąd uwaga producentów mykopestycydów skupiała się głównie na wyborze stosunkowo łatwych do produkcji i dystrybucji szczepów, przy rozsądnych kosztach, długoterminowej stabilności i zdolności do szybkiego działania w naturalnych warunkach. Procesy przemysłowe są ukierunkowane na wytwarzanie jednostek dyspersyjnych poprzez indukcję konidiogenezy na sztucznych podłożach, wytwarzanie blastosporów z hodowli drożdży w pożywkach płynnych lub wzrost biomasy strzępkowej na różnych substratach. W celu zwiększenia skuteczności mykopestycydy stanowią najczęściej zawiesinę konidiów, która jest rozpylana,

zapewniając pełne pokrycie i maksymalizując prawdopodobieństwo kontaktu i zakażenie docelowych owadów. W celu poprawy dyspersji preparatów, dodaje się środki zwilżające w postaci adiuwantów. Ponieważ na trwałość grzybów na powierzchni liści negatywnie wpływa promieniowanie ultrafioletowe, w wielu przypadkach podejmuje się próby ochrony inokulum grzyba przez włączenie blokerów i środków przeciwsłonecznych [17].

Mykolestycydy mogą być stosowane w krótkich odstępach czasu, lub nawet jednocześnie z wieloma insektycydami, co zostało potwierdzone w wielu doświadczeniach polowych [72]. Pewne ograniczenia w stosowaniu mykolestycydów mogą wynikać z warunków środowiskowych. W rzeczywistości inokulum entomopatogena ma ograniczony okres trwałości i zazwyczaj potrzeba 2–3 tygodnie, aby skutecznie doprowadzić do śmierci owadów. Ponadto aplikowanie musi być przeprowadzane w okresach wysokiej wilgotności względnej powietrza, aby stworzyć warunki dla kiełkowania zarodników. Zatem przestrzeganie optymalnych warunków aplikowania ma zasadnicze znaczenie dla uzyskania udanego zakażenia owadów przez entomopatogeny, a w przypadku szczepów endofitycznych skutecznego zasiedlenia rośliny, aby zagwarantować jej trwałą ochronę [62].

Badania laboratoryjne wykazały, że szczepy *B. bassiana* i *M. anisopliae* wybrane do biokontroli nie są ani toksyczne, ani zakaźne dla kręgowców [99, 100]. Choć takie badania nie wykazały szkodliwego wpływu grzybów i ich toksyn na ludzi i organizmy nie będące przedmiotem zwalczania, należy jednak zachować ostrożność, aby uniknąć wdychania konidiów podczas pracy z produktem. Wreszcie, biorąc pod uwagę udokumentowaną zdolność produkowania przez większość gatunków grzybów owadobójczych substancji toksycznych, nie należy lekceważyć możliwego zanieczyszczenia mykotoksynami organów roślin przeznaczonych do spożycia [83].

Grzyby entomopatogeniczne wykorzystywane są nie tylko do zwalczania wszelkiego rodzaju szkodliwych stawonogów, ale również coraz częściej mają szersze zastosowanie. Przykłady skuteczności gatunków takich jak *B. bassiana*, *M. anisopliae* i *I. fumosorosea* w leczeniu zwierząt hodowlanych udokumentowano w odniesieniu do ptaszyńca kurzego [88] oraz much [44]. Ewentualne zastosowanie w środowisku antropologicznym wynika ze skuteczności przeciwko musze domowej [47] oraz karaluchowi wschodniemu [26]. Wykazano również efekt synergiczny z syntetycznymi insektycydami wobec tych ostatnich owadów [32]. Wykazano również, że grzyby entomopatogeniczne np. *M. anisopliae*, mogą pasożytować na komarach, więc ich stosowanie wspomaga walkę z malarią [77]. Wyniki licznych badań przeprowadzonych na całym świecie wykazały

ogromny potencjał w ograniczaniu wszystkich gatunków komarów zdolnych do przenoszenia wirusów i innych czynników zakaźnych [96].

Statystyki wskazują, że Ameryka Południowa jest kontynentem, na którym występuje największe wykorzystanie mykoinsektycydów, tj. ok. 43% światowej produkcji. Krajem wiodącym jest Brazylia, gdzie obszar poddany działaniu *M. anisopliae* w celu zwalczania gatunków z rodzaju *Mahanarva* (*Cercopidae*) oszacowano na około milion hektarów w 2008 r., z czego 75% dotyczyło plantacji trzciny cukrowej [45]. W Kolumbii zarodniki *B. bassiana* uzyskane z hodowli na ugotowanym ryżu zostały wykorzystane do ograniczenia populacji ryjkowca kawowego [58]. Innym wiodącym krajem w tym konkretnym sektorze są Chiny, gdzie w ostatnim czasie *B. bassiana* był używany co roku na powierzchniach do 1,3 miliona hektarów dzięki rozwojowi małych regionalnych firm wykorzystujących tanie substraty do masowej produkcji. Osiągnięto mniej lub bardziej znaczące sukcesy jeśli chodzi o zwalczanie szkodników w leśnictwie i rolnictwie tj.: omacnicy prosowianki, skoczaków, ryjkowca ziemniaczanego i gatunków z rodzaju barczatkowate oraz brudnicowate. W Południowych Chinach obszar około miliona hektarów został poddany zabiegom dotyczącym ograniczania ćmy na sosnach [97]. W Polsce prowadzone są próby wykorzystania maczuźnika *Cordyceps militaria*, jako jednej z metod w profilaktyce ochrony lasu przed rozwojem gradacji owadów np. barczatki sosnowki, strzygoni choinówki oraz poprocha cetyniaka. *Cordyceps militaris* występuje na wszystkich kontynentach i ma w różnym stopniu udokumentowaną rolę w regulacji liczebności populacji niektórych owadów leśnych np. gatunku ćmy z rodziny garbatkowate i barczatki sosnowki w Japonii, Polsce i na Litwie. W literaturze sygnalizowana jest pilna potrzeba kontynuowania badań nad metodami wykorzystania maczuźnika *Cordyceps militaris* w profilaktyce ochrony lasu przed rozwojem gradacji owadów, zwłaszcza w świetle coraz krótszej listy dostępnych środków ochrony roślin służących ograniczaniu ich liczebności oraz konieczności spełniania wielu wymagań stawianych przez prawo przed profesjonalnymi użytkownikami w ich stosowaniu [75].

Najczęściej używanym grzybem w ochronie roślin jest *Baeuweria bassiana*, zapewne z powodu szczególnie dużej liczby żywicieli, która obejmuje około 700 gatunków stawonogów i zdolności do adaptacji w różnych środowiskach. Grzyb ten jest wszechobecny w glebie, a często izolowany nawet w środowisku morskim [102]. Gatunek ten, chociaż jednolity pod względem morfologicznym, wykazuje konkretne oznaki pasożytniczej specjalizacji, bowiem zidentyfikowano szczepy szczególnie aktywne przeciwko gatunkom roztoczy (*Tetranychus* spp.) [101]. Patogeniczne właściwości grzyba

związane są wytwarzaniem różnych metabolitów wtórnych, takich jak: kwas szczawiowy, oosporeina, bassianina, tenellina, beauvericina, bassianolid, izarolidyna i beauveriolid, które prawdopodobnie regulują wirulencję lub reakcję immunologiczną w różnym stopniu w zależności od gatunku gospodarza. Innym produktem bioaktywnym jest bassiacrydyna, toksyczne białko, które u wędrownego szarańczy wywołuje śmiertelność do 50%. Ma ona związek z melanizacją na poziomie tchawicy, pęcherzyków powietrza i ciał tłuszczowych [59]. Sekwencjonowanie genotypu *B. bassiana* pozwoliło uzyskać wiedzę na temat genów zaangażowanych w ekspresję wirulencji, które można wykorzystać w biotechnologii. Innym grzybem entomopatogenicznym, którego genotyp został zsekwencjonowany, jest *M. anisopliae* [18]. Podobnie jak w poprzednim przypadku, gatunek ten jest także wszechobecny, w środowisku, nawet znajdowany był w środowisku morskim [9]. Ponadto zidentyfikowano nowy gatunek, *M. blattodeae*, który wykazuje szczególną zdolność do zakażenia karaluchów [50].

Liczne badania wskazują na dominację *B. bassiana* w próbach gleby i ściółki leśnej w Polsce, Danii, Finlandii, Hiszpanii, Chinach i na Słowacji [90]. Grzyb ten występuje często na owadach przebywających w glebie lub zimujących w wierzchnich warstwach gleby. Prawdopodobnie dominacja tego gatunku w bogatych w materię organiczną powierzchniowych warstwach gleby wynika z jego zdolności do rozwoju w fazie saprotroficznej [89, 91]. Z kolei w glebach pól uprawnych najczęściej występuje *M. anisopliae* i *I. fumosorosea*. Pierwszy z wymienionych gatunków jest najbardziej tolerancyjnym w stosunku do gleb zmienianych działalnością człowieka. Ponadto, gatunek ten najlepiej znosi okresową nieobecność żywiciela w środowisku. Stwierdzono także, że na polach wieloobszarowych, gdzie stosowane są intensywne zabiegi agrotechniczne, maleje różnorodność patogenów stawonogów, podobnie jak pasożytów i drapieżców [33].

5. Perspektywy integrowanej ochrony roślin

Zgodnie z Dyrektywą UE i Metodami Instytutu Ochrony Roślin – PIB, Integrowana Ochrona Roślin „jest to sposób ochrony roślin uprawnych przed organizmami szkodliwymi (grzybami, bakteriami, wirusami i innymi czynnikami chorobotwórczymi; owadami; roztocznymi; nicieniami; chwastami lub zwierzętami kręgowymi), polegający na wykorzystaniu wszystkich dostępnych metod profilaktyki i ochrony roślin, w szczególności metod nie chemicznych, w celu minimalizowania potencjalnego zagrożenia dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz środowiska. Celem Integrowanej Ochrony Roślin jest utrzymanie populacji agrofagów

poniżej progów szkodliwości oraz zabezpieczenie efektu ekonomicznego produkcji” [39].

Informacje przedstawione w poprzednich rozdziałach wskazują, że stosowanie grzybów entomopatogenicznych do zwalczania szkodliwych owadów w Europie jest nadal na niskim poziomie, pomimo wielu ich zalet, w porównaniu do produktów chemicznych i innych biologicznych. Jednak postęp wiedzy na temat tych grzybów i możliwości, jakie biotechnologia oferuje dzięki wykorzystywaniu pożądanych cech wybranych szczepów, wydaje się znacząco wpływać na poprawę skuteczności grzybowych środków owadobójczych i zwiększyć ich rolę w najbliższym czasie. Dalsze badania powinny uwzględniać zarówno bezpośrednie działanie grzybów owadobójczych jak i pośrednie oddziaływanie jako antagonistów, induktorów odporności i mikroorganizmów wspomagających wzrost roślin. Daje to możliwość wyselekcjonowania szczepów o wysokiej wirulencji i szerokim spektrum działania na szkodniki roślin. Z drugiej strony, wybór szczepów posiadających określone zdolności, powinien być ukierunkowany także na możliwość ich zastosowania w integrowanej ochronie roślin, razem z produktami syntetycznymi, których stosowanie wydaje się niezbędne do osiągnięcia wysokich plonów, szczególnie w przypadku upraw specjalistycznych. W związku z tym należy zwrócić należytą uwagę, że populacje owadów odporne na niektóre produkty syntetyczne są często bardziej podatne na entomopatogeny [25]. Z tego powodu, duże znaczenie powinna mieć możliwość wykorzystania synergistycznego działania grzybów owadobójczych z różnymi insektycydami. Niektóre badania pokazują, że jest to możliwe, bowiem uzyskano pozytywne wyniki w testach z preparatami: chlorantranilipolem [29] i pyretroidami [48]. Jednak większość fungicydów hamuje kiełkowanie grzybów owadobójczych [77]. W literaturze wskazuje się również na próby łącznego stosowania grzybów owadobójczych z entomofagami lub z zapylaczami, bowiem np. *Isaria fumosorosea* nie infekuje trzmieli [77]. Pozytywne wyniki odnotowano także w przypadku ochrony pomidorów i papryki uprawianych w szklarniach przy użyciu trzmieli (*Bombus impatiens*) w celu roznoszenia preparatu opartego na *B. bassiana* [74] oraz do zwalczania *Otiorynchus sulcatus* przez *M. brunneum* i *B. bassiana* [71], chociaż niektórzy autorzy wskazują na szkodliwość *B. bassiana* dla trzmieli [77].

Zastosowania entomopatogenów jest szczególnie wskazane w uprawach pod osłonami, gdzie osiągnięto największy sukces w stosowaniu bioinsektycydów. W takich warunkach można regulować temperaturę i wilgotność powietrza, a grzyby owadobójcze potrzebują temperatury ok. 25°C i wilgotności 80–90% dla skielkowania zarodników i dokonania zakażenia [77, 78]. Uprawy pod osłonami są zatem łatwiejsze do

ochrony przy pomocy preparatów opartych na grzybach owadobójczych z rzędu *Hypocreales*, a szczególnie *Entomophthorales*, które mają wyższe wymagania co do wilgotności, aby były skuteczne. Takie wymagania grzybów oraz trudności techniczne dotyczące głównie produkcji masowej oraz wielkości i stabilności propaguli, ograniczyły rozwój produktów opartych na grzybach owadobójczych, pomimo konkretnych badań przeprowadzonych w celu przewyższenia niektórych z wyżej wymienionych problemów [73]. Z tego powodu grzyby owadobójcze mogą być szczególnie przydatne, jeśli wdrażane zostaną strategie mające na celu ochronę rodzimej bioróżnorodności w ekosystemach, m.in. poprzez modyfikację środowiska lub ograniczenie zabiegów agrotechnicznych [77]. Stwierdzono bowiem, że większa różnorodność tych mikroorganizmów występuje w glebach, gdzie prowadzona jest uprawa ekologiczna niż w glebach z tradycyjnej uprawy. Wykazano także, że rozwojowi grzybów owadobójczych sprzyjają siedliska silnie uwilgotnione, lasy, szuwały, zadrzewienia, łąki i uprawy wieloletnie [77].

Obecnie, większość biopreparatów produkowanych na bazie grzybów owadobójczych opiera się na polifagicznych gatunkach grzybów z rzędu *Hypocreales*, które mają szerokie spektrum gospodarzy. Grzyby owadomorkowe z rzędu *Entomophthorales*, które są bardziej wyspecjalizowane w stosunku do żywiciela, trudno rosną na sztucznych podłożach, więc nie znajdują zainteresowania wśród potencjalnych producentów biopreparatów [6]. Na terenie Polski zarejestrowano dwa bioinsektycydy do zwalczania szkodników w uprawach pod osłonami: Preferal, na bazie grzyba *I. fumosorosea* [90] i Naturalis zawierający szczep ATCC 74040 grzyba *B. bassiana* [85]. Na świecie asortyment tych środków jest znacznie większy. Najwięcej bioinsektycydów opartych jest na gatunku *B. bassiana* [77].

Mykoinsektycydy komercyjne oparte na *B. bassiana* są stosunkowo stabilne w porównaniu z innymi. Dzięki inżynierii genetycznej opracowano metody transformacji dzikich szczepów w celu poprawy ich działania, łącząc cechy różnych zmutowanych szczepów. Na przykład, zaobserwowano, że reakcja fotoreceptora ma znaczący wpływ na konidiogenezę i wirulencję i że tolerancję na promieniowanie ultrafioletowe można znacznie poprawić przez wprowadzenie systemu fotoreceptorów pigmentowych od innych gatunków grzybów [94]. Jeszcze bardziej istotne dla rozwoju hiperwirulentnych szczepów jest pełne zrozumienie dynamiki procesu zakaźnego wpływającego na różne gatunki owadów. Obecnie prowadzonych jest wiele badań nad możliwością transformacji dzikich szczepów w celu zwiększenia ekspresji specyficznych genów, ze szczególnym uwzględnieniem tych kodujących chitynazy i proteiny oraz regulujących szlaki metaboliczne do produkcji toksyn. Bardzo interesujące wydają się

być wyniki badań wskazujące, że ekspresja białka fuzyjnego o połączonej aktywności proteazy i chitynazy zwiększa wirulencję *B. bassiana* przeciwko mszycy brzoskwińowej. Nie należy jednak zapominać, że transformowane szczepy ogólnie mają zmniejszoną zdolność adaptacji i trwałość w środowisku, co może obniżyć ich skuteczność [94].

Ważnym kryterium oceny mykoinsektycydów jest bezpieczeństwo dla ludzi, środowiska i pożytecznych organizmów. Generalnie uważa się, że grzyby owadobójcze nie powodują objawów fitotoksyczności roślin i są bezpieczne dla zdrowia ludzi oraz środowiska [77]. Niedawno jednak poddano w wątpliwość, czy metabolity produkowane przez gatunki *Beauveria* i *Metarhizium*, głównie ze strukturą cyklopeptydu, faktycznie są bezpieczne [86]. Wydaje się, że ryzyko związane ze stosowaniem tych produktów jest minimalne, może raczej wynikać z produkcji mykotoksyn przez grzyby z rodzajów: *Cladosporium*, *Aspergillus* i *Penicillium*, które są znacznie bardziej rozpowszechnione w środowisku. Ciekawym zagadnieniem są także aspekty związane z interakcjami entomopatogennych grzybów z układem odpornościowym owadów. Mechanizmy obrony owadów przed patogenami wskazują na wysokie podobieństwo do układu odpornościowego kręgowców. W związku z tym, w przyszłości wiele zależeć będzie od postępu badań i wiedzy na temat procesów regulujących odporność owadów oraz adaptacji grzybów entomopatogenicznych do pokonania tych barier podczas długiej drogi ewolucji [41].

6. Podsumowanie

W pracy zaprezentowano przegląd aktualnych badań nad grzybami owadobójczymi. Entomopatogeny są rozpowszechnione w przyrodzie i stanowią atrakcyjny czynnik biologicznej ochrony. Oprócz możliwości pasożytowania na owadach i roztoczach wykazują także inne, pośrednie mechanizmy oddziaływania, które przyczyniają się do ograniczania populacji szkodników. Wiele gatunków zasiedla endofitycznie tkanki roślin wspomagając ich odporność oraz wzrost i rozwój. Ochronne właściwości szczepów endofitycznych wynikają m.in. ze stymulacji produkcji fitoaleksyn, uwalniania sideroforów i fitohormonów. Szerokie uzdolnienia grzybów owadobójczych wykorzystywane są do produkcji biopreparatów, które mogą być włączone do integrowanej ochrony roślin. Obecnie badania ukierunkowane są na zwiększenie produkcji i wprowadzania bioinsektycydów do środowiska, prowadzone są także działania mające na celu modyfikację środowiska naturalnego poprzez stwarzanie dogodnych warunków do zachowania bioróżnorodności i rozwoju mikroorganizmów pożytecznych w ekosystemach

Piśmiennictwo

1. Abdel-Baky N.F., Abdel-Salam A.H.: Natural incidence of *Cladosporium* spp. as a bio-control agent against whiteflies and aphids in Egypt. *J. App. Entomol.* **127**, 228–235 (2003)
2. Akello J., Sikora R.: Systemic acropedal influence of endophyte seed treatment on *Acyrtosiphon pisum* and *Aphis fabae* offspring development and reproductive fitness. *Biol. Control* **61**, 215–221 (2012)
3. Andersen S.B., Gerritsma S., Yusah K.M., Mayntz D., Hywel-Jones N.L., Billen J., Boomsma J.J., Hughes D.P.: The life of a dead ant: the expression of an adaptive extended phenotype. *Am. Nat.* **174**, 424–433 (2009)
4. Askary H., Carriere Y., Belanger R.R., Brodeur J.: Pathogenicity of the fungus *Verticillium lecanii* to aphids and powdery mildew. *Biocontrol Sci. Techn.* **8**, 23–32 (1998)
5. Audoin V.: Nouvelles expériences sur la nature de la maladie contagieuse qui attaque les vers à soie, et qu'on désigne sous le nom de muscardine. *Ann. Sci. Nat.* **8**, 257–270 (1837)
6. Augustyniuk-Kram A.: Organizmy pożyteczne w strategiach biologicznego zwalczania – grzyby owadobójcze. *Studia Ecologiae et Bioethicae*, **8**, 45–53 (2010)
7. Bałazy S.: Zróżnicowanie grup funkcjonalnych grzybów entomopatogenicznych. *Biotechnologia*, **3**, 11–32 (2000)
8. Bałazy S.: Znaczenie obszarów chronionych dla zachowania zasobów grzybów entomopatogenicznych. *Kosmos*, **1**, 5–16 (2004)
9. Bischoff J.F., Rehner S.A., Humber R.A.: A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, **101**, 512–530 (2009)
10. Bruck D.J.: Fungal entomopathogens in the rhizosphere. *Biocontrol*, **55**, 103–112 (2010)
11. Butt T.M., Coates C.J., Dubovskiy I.M., Ratcliffe N.A.: Entomopathogenic fungi: new insights into host-pathogen interactions. *Adv. Genet.* **94**, 307–364 (2016)
12. Da Costa G.L., de Moraes A.M.L., Galvão C.: Entomopathogenic effect of *Aspergillus giganteus* and *Penicillium corylophilum* on two triatomine vectors of Chagas disease. *J. Basic Microb.* **43**, 3–7 (2003)
13. De Hong G.S.: The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium* gen.nov. *Studies in Mycology*, **1**, 1–41 (1972)
14. De Lima Barros M.B., de Almeida Paes R., Schubach A.O.: *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. *Clin Microbiol. Rev.* **24**, 633–654 (2011)
15. Dissanayake A.J., Jayawardena R.S., Boonmee S., Thambugala K.M., Tian Q., Mapook A., Senanayake I.C., Yan J., Li Y.M., Li X., Chukeatirote, E., Hyde K.D.: The status of *Myriangiaceae* (*Dothideomycetes*). *Phytotaxa*, **176**, 219–237 (2014)
16. Fassati O.: Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa 1983, s. 256 (1983)
17. Fernandes É.K., Rangel D.E., Braga G.U., Roberts D.W.: Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. *Current Genetics*, **61**, 427–440 (2015)
18. Gao Q., Jin K., Ying S.H., Zhang Y., Xiao G., Shang Y., Duan Z., Hu X., Xie X.Q., Zhou G., Peng G., Luo Z., Huang W., Wang B., Fang W., Wang S., Zhong Y., Ma L.J., St. Leger R. J., Zhao G.P., Pei Y., Feng M.G., Xia Y., Wang C.: Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum*. *PLoS Genetics*, **7**, e1001264 (2011)
19. Gómez-Vidal S., Salinas J., Tena M., Lopez-Llorca L.V.: Proteomic analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) responses to endophytic colonization by entomopathogenic fungi. *Electrophoresis*, **30**, 2996–3005 (2009)
20. Greenfield M., Gómez-Jiménez M.I., Ortiz V., Vega F.E., Kramer M., Parsa S.: *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. *Biol. Control*, **95**, 40–48 (2016)
21. Greif M.D., Currah R.S.: Patterns in the occurrence of saprophytic fungi carried by arthropods caught in traps baited with rotted wood and dung. *Mycologia*, **99**, 7–19 (2007)
22. Griffin M.R., Ownley B.H., Klingeman W.E., Pereira R.M.: Evidence of induced systemic resistance with *Beauveria bassiana* against *Xanthomonas* in cotton. *Phytopathology*, **96**, S42 (2006)
23. Hajek A.E., Leger R.J.: Interactions between fungal pathogens and insects host. *Annu. Rev. Entomol.* **39**, 15–22 (1994)
24. Hajek A.E.: Larval behavior in *Lymantria dispar* increases risk of fungal infection. *Oecologia*, **126**, 285–291 (2001)
25. Howard A.F., Koenraadt C.J., Farenhorst M., Knols B.G., Takken W.: Pyrethroid resistance in *Anopheles gambiae* leads to increased susceptibility to the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Malaria J.* **9**, 168 (2010)
26. Hubner-Campos R.F., Leles R.N., Rodrigues J., Luz C.: Efficacy of entomopathogenic hypocrealean fungi against *Periplaneta americana*. *Parasitol. Int.* **62**, 517–521 (2013)
27. Jaber L.R.: Grapevine leaf tissue colonization by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* s.l. and its effect against downy mildew. *Biocontrol*, **60**, 103–112 (2015)
28. Jensen M.A., Losey J.E., Hajek A.E.: Altered behavior and distribution of pea aphids, *Acyrtosiphon pisum* (*Homoptera: Aphididae*), infected with *Pandora neoaphidis* (*Zygomycetes: Entomophthorales*). *Biocontrol*, **46**, 337–343 (2001)
29. Jia M., Cao G., Li Y., Tu X., Wang G., Nong X., Whitman D.W., Zhang Z.: Biochemical basis of synergism between pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and insecticide chlorantraniliprole in *Locusta migratoria* (Meyen). *Sci. Rep.* **6**, 28424 (2016)
30. Joop G., Vilcinskas A.: Coevolution of parasitic fungi and insect hosts. *Zoology*, **119**, 350–358 (2016)
31. Kaakeh W., Reid B.L., Bohnert T.J., Bennett G.W.: Toxicity of imidacloprid in the German cockroach (*Dictyoptera: Blattellidae*), and the synergism between imidacloprid and *Metarhizium anisopliae* (Imperfect Fungi: Hyphomycetes). *J. Econ. Entomol.* **90**, 473–482 (1997)
32. Karthi S., Shivakumar M.S., Ponsankar A., Thanigaiavel A., Chellappandian M., Vasantha-Srinivasan P., Muthu-Pandian C.K., Hunter W.B., Senthil-Nathan S.: Effect of *Aspergillus flavus* on the mortality and activity of antioxidant enzymes of *Spodoptera litura* Fab. (*Lepidoptera: Noctuidae*) larvae. *Pesti. Biochem. and Phys.* **149**, 54–60 (2018)
33. Karg J., Bałazy S.: Wpływ struktury krajobrazu na występowanie agrofagów i ich antagonistów w uprawach rolniczych. *Prog. Plant. Prot./Post. Ochr. Roślin* **49**, 1015–1034 (2009)
34. Kaur H.P., Singh B., Thakur A., Kaur A., Kaur S.: Studies on immunomodulatory effect of endophytic fungus *Alternaria alternata* on *Spodoptera litura*. *J. Asia-Pac. Entomol.* **18**, 67–75 (2015)
35. Kavková M., Curn V.: *Paecilomyces fumosoroseus* (*Deuteromycotina: Hyphomycetes*) as a potential mycoparasite on *Sphaerotheca fuliginea* (*Ascomycotina: Erysiphales*). *Mycopathologia*, **159**, 53–63 (2005)
36. Kepler R., Ban S., Nakagiri A., Bischoff J., Hywel-Jones N., Owensby C.A., Spatafora J.W.: The phylogenetic placement of hypocrealean insect pathogens in the genus *Polycephalomycetes*: An application of one fungus one name. *Fungal Biol.* **117**, 611–622 (2013)
37. 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.: A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). *IMA Fungus*, **8**, 335–353 (2017)

38. Khan A.L., Hamayun M., Khan S.A., Kang S.M., Shinwari Z.K., Kamran M., Ur Rehman S., Kim J.G., Lee I.J.: Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress. *World J. Microb. Biot.* **28**, 1483–1494 (2012)
39. Kielak K.: Nowe przepisy dotyczące stosowania środków ochrony roślin – wyzwania dla techniki ochrony roślin, <https://www.ior.poznan.pl/plik,1489,kielak-x-racjonalna-technika-2012> (12.08.2019)
40. Kim J.J., Goettel M.S., Gillespie D.R.: Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biol. Control* **40**, 327–332 (2007)
41. Krassilstchik J.: La production industrielle des parasites végétaux par la destruction des insectes nuisibles. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, **19**, 461–472. (1888)
42. LeConte J.L.: Hints for the promotion of economic entomology. *P. Am. Assoc. Adv. Sci.* **22**, 10–22 (1874)
43. Lefort M.C., McKinnon A., Nelson T.L., Glare T.: Natural occurrence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* as a vertically transmitted endophyte of *Pinus radiata* and its effect on above- and below-ground insect pests. *N. Z. Plant Protect.* **69**, 68–77 (2016)
44. Lohmeyer K.H., Miller J.A.: Pathogenicity of three formulations of entomopathogenic fungi for control of adult *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* **99**, 1943–1947 (2006)
45. Lu H.L., St. Leger R.J.: Insect immunity to entomopathogenic fungi. *Adv. Genet.* **94**, 251–285 (2016)
46. Luangsa-ard J., Houbraken J., van Doorn T., Hong S.B., Borman A.M., Hywel-Jones N.L., Samson R.A.: *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **321**, 141–149 (2011)
47. Machtinger E.T., Weeks E.N.I., Geden C.J., Kaufman P.E.: House fly (*Musca domestica*) (Diptera: Muscidae) mortality after exposure to commercial fungal formulations in a sugar bait. *Biocontrol Sci. Techn.* **26**, 1444–1450 (2016)
48. Meyling N.V., Arthur S., Pedersen K.E., Dhakal S., Cedergreen N., Fredensborg B.L.: Implications of sequence and timing of exposure for synergy between the pyrethroid insecticide alpha-cypermethrin and the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Pest Manag. Sci.* **74**. doi.org/10.1002/ps.4926 (2018)
49. Meyling N.V., Pell J.K.: Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecol. Entomol.* **31**, 162–171 (2006)
50. Montalva C., Collier K., Rocha L.F.N., Inglis P.W., Lopes R.B., Luz C., Humber R.A.: A natural fungal infection of a sylvatic cockroach with *Metarhizium blattodeae* sp. nov., a member of the *M. flavoviride* species complex. *Fungal Biol.* **120**, 655–665 (2016)
51. Ormond E.L., Thomas A.P., Pell J.K., Freeman S.N., Roy H.E.: Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*. *FEMS Microbiol. Ecol.* **77**, 229–237 (2011)
52. Ownley B.H., Griffin M.R., Klingeman W.E., Gwinn K.D., Moulton J.K., Pereira R.M.: *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *J. Invertebr. Pathol.* **98**, 267–270 (2008)
53. Parsa S., Ortiz V., Gómez-Jiménez M.I., Kramer M., Vega F.E.: Root environment is a key determinant of fungal entomopathogen endophytism following seed treatment in the common bean, *Phaseolus vulgaris*. *Biol. Control* **116**, 64–81 (2018)
54. Pasteur L.: Observations (au sujet des conclusions de M. Dumas) relatives au phylloxera. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences*, **79**, 1233–1234 (1874)
55. Paterson R.R.M.: *Cordyceps* – A traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory? *Phytochemistry*, **69**, 1469–1495 (2008)
56. Posada F., Aime M.C., Peterson S.W., Rehner S.A., Vega F.E.: Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycol. Res.* **111**, 748–757 (2007)
57. Posada F., Vega F.E.: Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*). *Mycologia*, **97**, 1195–1200 (2005)
58. Posada-Flórez F.J.: Production of *Beauveria bassiana* fungal spores on rice to control the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, in Colombia. *J. Insect Sci.* **8**, 41 (2008)
59. Quesada-Moraga E., Landa B.B., Munoz-Ledesma J., Jimenez-Diaz R.M., Santiago-Alvarez C.: Endophytic colonization of opium poppy *Papaver somniferum* by an entomopathogenic *Beauveria bassiana* strain. *Mycopathologia*, **161**, 323–329 (2006)
60. Quesada-Moraga E., Vey A.: Bassiacridin, a protein toxic for locusts secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Mycol. Res.* **108**, 441–452 (2004)
61. Rehner S.A., Buckley E.: A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, **97**, 84–98 (2005)
62. Resquín-Romero G., Garrido-Jurado I., Delso C., Ríos-Moreno A., Quesada-Moraga E.: Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of mycoinsecticides against chewing insects. *J. Invertebr. Pathol.* **136**, 23–31 (2016)
63. Ríos-Moreno A., Garrido-Jurado I., Resquín-Romero G., Arroyo-Manzanares N., Arce L., Quesada-Moraga E.: *Destruxin A* production by *Metarhizium brunneum* strains during transient endophytic colonization of *Solanum tuberosum*. *Biocontrol Sci. Techn.* **26**, 1574–1585 (2016)
64. Rodrigues J., Luz C., Humber R.A.: New insights into the *in vitro* development and virulence of *Culicinomyces* spp. as fungal pathogens of *Aedes aegypti*. *J. Invertebr. Pathol.* **146**, 7–13 (2017)
65. Rossman A.Y.: *Podonectria*, a genus in the Pleosporales on scale insects. *Mycotaxon*, **7**, 323 (1978)
66. Roy H.E., Pell J.K.: Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. *Biocontrol Sci. Techn.* **10**, 737–752 (2000)
67. Roy H.E., Steinkraus D.C., Eilenberg J., Hajek A.E., Pell J.K.: Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. *Annu. Rev. Entomol.* **51**, 331–357 (2006)
68. Russo M.L., Pelizza S.A., Cabello M.N., Stenglein S.A., Scorsetti A.C.: Endophytic colonisation of tobacco, corn, wheat and soybeans by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales). *Biocontrol Sci. Techn.* **25**, 475–480 (2015)
69. Samson R.A., Gams W., Evans H.C.: *Pleurodesmospora*, a new genus for the entomogenous hyphomycete *Gonatorrhodiella coccorum*. *Persoonia*, **11**, 65–69 (1980)
70. Sasan R.K., Bidochka M.J.: The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development. *Am. J. Bot.* **99**, 101–107 (2012)
71. Senthilkumar N., Murugesan S., Babu D.S.: Metabolite profiling of the extracts of endophytic fungi of entomopathogenic significance, *Aspergillus flavus* and *Nigrospora sphaerica* isolated from tropical tree species of India, *Tectona grandis* L. *Journal of Agriculture and Life Sciences*, **1**, 108–114 (2014)
72. Shah F.A., Ansari M.A., Watkins J., Phelps Z., Cross J., Butt T.M.: Influence of commercial fungicides on the germination, growth

- and virulence of four species of entomopathogenic fungi. *Biocontrol Sci. Technol.* **19**,743–753 (2009)
73. Shah P.A., Aebi M., Tuor U.: Infection of *Macrosiphum euphorbiae* with mycelial preparations of *Erynia neoaphidis* in a greenhouse trial. *Mycol. Res.* **104**,645–652 (2000)
 74. Shipp L., Kapongo J.P., Park H.H., Kevan P.: Effect of bee-vectored *Beauveria bassiana* on greenhouse beneficials under greenhouse cage conditions. *Biol. Control* **63**,135–142 (2012)
 75. Sierpińska L.: Proceedings: Populations dynamics impacts and integrated management of forest defoliating insects : 129–142 (W: Ml. McManus i A.M. Liebhold (red.) USDA Forest Service General Technical Report, NE-247 (1998)
 76. Sosnowska D.: Biopreparaty grzybowe w biologicznym zwalczaniu szkodników upraw szklarniowych i polowych. *Post. Nauk Roln.* **5**,17–37 (2005)
 77. Sosnowska D.: Postępy w badaniach nad wykorzystaniem grzybów pasożytniczych w integrowanej ochronie roślin. *Prog. Plant. Prot./Post. Ochr. Roślin* **4**, 747–750 (2013)
 78. Sosnowska D., Piątkowski J.: Nowy preparat biologiczny do zwalczania mączlika szklarniowego. *Ochrona Roślin*, **11**, 7–9 (1995)
 79. St. Leger R.J.: Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. *J. Invertebr. Pathol.* **98**, 271–276 (2008)
 80. St. Leger R.J., Wang C.S.: Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. *Appl. Microbiol. Biot.* **85**, 901–907 (2010)
 81. Staples J.A., Milner R J.: A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology*, **36**,133–148 (2000)
 82. Steenberg T., Humber R.A.: Entomopathogenic potential of *Verticillium* and *Acremonium* species (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *J. Invertebr. Pathol.* **73**, 309–314 (1999)
 83. Strasser H., Vey A., Butt T.M.: Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species?. *Biocontrol Sci. Technol.* **10**,717–735 (2000)
 84. Strongman D.B., Strunz G.M., Giguere P., Yu C.M., Calhoun L.: Enniatins from *Fusarium avenaceum* isolated from balsam fir foliage and their toxicity to spruce budworm larvae, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Chem. Ecol.* **14**, 753–764 (1988)
 85. Studzińska B.: Nowości w ekologicznej ochronie roślin. <http://jakzostacrolnikiemeko.pl/wp-content/uploads/2019/03/Nowo%C5%9Bci-w-ekologicznej-ochronie-ro%C5%9Blin> (12.08.2019)
 86. Sung G.H., Hywel-Jones N.L., Sung J.M., Luangsa-ard J.J., Shrestha B., Spatafora J.W.: Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Stud. Mycol.* **57**, 5–59 (2007)
 87. Taevner L., Wynendaele E., De Vreese L., Burvenich C., De Spiegeleer B.: The mycotoxin definition reconsidered towards fungal cyclic depsipeptides. *J. Environ. Sci. Heal. C* **34**, 114–135 (2016)
 88. Tavassoli M., Allymeh M., Pourseyed S.H., Ownag A., Bernousi I., Mardani K., Ghorbanzadegan M., Shokrpour S.: Field bioassay of *Metarhizium anisopliae* strains to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Vet. Parasitol.* **178**, 374–378 (2011)
 89. Tkaczuk C., Krzyczkowski T., Wegensteiner R.: The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from mid-field woodlots and adjacent small-scale arable fields. *Acta Mycol.* **2**: 191–202 (2012)
 90. Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan A., Miętkiewski R.: Wpływ wybranych fungicydów oraz wyciągów glebowych na wzrost owadobójczego grzyba *Metarhizium anisopliae*. *Prog. Plant. Prot./Post. Ochr. Roślin* **4**: 751–756 (2013)
 91. Tkaczuk C., Król A., Majchrowska-Safaryan A., Niecewicz Ł.: The occurrence of entomopathogenic fungi in soils from fields cultivated as a conventional and organic system. *Journal of Ecological Engineering*, **4**: 137–144 (2014)
 92. Tkaczuk C., Majchrowska-Safaryan, Harasimiuk M.: Występowanie oraz potencjał infekcyjny grzybów entomopatogenicznych w glebach z pól uprawnych, łąk i siedlisk leśnych. *Prog. Plant Prot.* **1**: 5–11 (2015)
 93. Tomalak M., Sosnowska D., Lipa J.J.: Czynniki biologiczne w integrowanej ochronie roślin. *Prog. Plant. Prot./Post. Ochr. Roślin* **4**: 1776–1786 (2011)
 94. Tong S.M., Zhang A.X., Guo C.T., Ying S.H., Feng M.G.: Daylight length-dependent translocation of VIVID photoreceptor in cells and its essential role in conidiation and virulence of *Beauveria bassiana*. *Environ. Microbiol.* **20**, 169–185 (2018)
 95. Vandermeer J., Perfecto I., Liere H.: Evidence for hyperparasitism of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) by the entomogenous fungus, *Lecanicillium lecanii*, through a complex ecological web. *Plant Pathol.* **58**, 636–641(2009)
 96. Vossbrinck C.R., Andreadis T.G., Vavra J., Becnel J.J.: Molecular phylogeny and evolution of mosquito parasitic microsporidia (*Microsporidia: Amblyosporidae*). *J. Eukaryot. Microbiol.* **51**, 88–95 (2004)
 97. Wang C.S., Fan M.Z., Li Z.Z., Butt T.M.: Molecular monitoring and evaluation of the application of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* in southeast China. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 861–870 (2004)
 98. Watanabe T.: Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key species. Wyd. 3.– CRC Press. 2010, s 404
 99. Weir A., Hammond P.M.: Laboulbeniales on beetles: host utilization patterns and species richness of the parasites. *Biodivers. Conserv.* **6**, 701–719 (1997)
 100. Wells P.M., Baverstock J., Majerus M.E., Jiggins F.M., Roy H.E., Pell J.K.: The effect of the coccinellid *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on transmission of the fungal pathogen *Pandora neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae). *Eur. J. Entomol.* **108**, 87–90 (2011)
 101. Wu S., Xie H., Li M., Xu X., Lei Z.: Highly virulent *Beauveria bassiana* strains against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, show no pathogenicity against five phytoseiid mite species. *Exp. Appl. Acarol.* **70**, 421–435 (2016)
 102. Yamazaki H., Rotinsulu H., Kaneko T., Murakami K., Fujiwara H., Ukai K., Namikoshi M.: A new dibenz[b,e]oxepine derivative, 1-hydroxy-10-methoxy-dibenz[b,e]oxepin-6,11-dione, from a marine-derived fungus, *Beauveria bassiana* TPU942. *Mar. Drugs* **10**, 2691–2697 (2012)
 103. Zhang Q., Zhang J., Yang L., Zhang L., Jiang D., Chen W., Li G.: Diversity and biocontrol potential of endophytic fungi in *Brassica napus*. *Biol. Control* **72**, 98–108 (2014)
 104. Zimmermann G.: Review on safety of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci. Technol.* **17**, 553–596 (2007)
 105. Zimmermann G.: Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci. Technol.* **17**, 879–920 (2007)