

AGATA KACZMAREK¹, ANNA KATARZYNA WROŃSKA¹, JUSTYNA SOBICH¹,
MIKOŁAJ DROZDOWSKI¹, MIECZYŚŁAWA IRENA BOGUŚ^{1,2}

¹ Instytut Parazytologii im. Witolda Stefańskiego PAN
Zakład Molekularnych Interakcji w Układzie Pasożyt-Żywiciel
Twarda 51/55, 00-818 Warszawa

² Biomibo
Strzygłowska 15, 04-866 Warszawa
E-mail: aga_kaczm@twarda.pan.pl

MECHANIZMY ODPORNOŚCIOWE OWADÓW I ICH PRZELAMYWANIE PRZEZ GRZYBY ENTOMOPATOGENNE

WSTĘP

Owady (Insecta) to organizmy należące do typu stawonogów. Są najliczniejszą gromadą zwierząt, a udokumentowanych muzealnie jest ponad milion gatunków. Występują w środowisku wodnym, lądowym, w powietrzu i w glebie. Mogą zasiedlać inne organizmy, zarówno roślinne, jak i zwierzęce, spotyka się je także w odchodach i na zwłokach. Zasiedlają terytoria, w których panuje klimat gorący, zimny, jak i umiarkowany. Wpływają również na gospodarkę i życie człowieka, zarówno w sposób pozytywny, jak i negatywny.

Obecnie najczęstszą metodą stosowaną w celu ograniczania liczebności populacji owadów szkodliwych są chemiczne środki ochrony roślin. Ich stosowanie cechuje się wprawdzie wysoką skutecznością działania, nie jest jednak pozbawione wad (BRITAIN i POTTS 2011, BLAIR i współaut. 2015, ŌZKARA i współaut. 2016, STANLEY i PREETHA 2016, KIM i współaut. 2017, WINTER 2017, MUŽINIĆ i ŽELJEŽIĆ 2018, HAWKINS i współaut. 2019, NEUWIRTHOVÁ i współaut. 2019). Chemiczne pestycydy charakteryzuje niska wybiórczość działania. Wpływają na bioróżnorodność gatunków, zaburzają funkcjonowanie ekosystemów, powodują śmiertelność owadów zarówno szkodliwych, jak i pożytecznych (np. pszczoł), mogą kumulować się w wo-

dzie lub glebie, a także zakłócają procesy fizjologiczne wielu gatunków występujących w ekosystemie. Dane literaturowe wskazują na ich negatywny wpływ także na zdrowie ludzi, dlatego coraz częściej poszukuje się alternatywy dla popularnych pestycydów.

Jedną z nich jest wykorzystanie do zabijania owadów naturalnych zdolności organizmów entomopatogennych, w tym grzybów i ich metabolitów (LACEY 2016, SHAH i PELL 2003, MANTZOUKAS i ELIOPOULOS 2020, KACZMAREK i BOGUŚ 2021b). W przeciwieństwie do bakterii, wirusów i pierwotniaków, posiadających zdolność do uśmiercania owadów, grzyby są zdolne do przenikania przez kutikule. Właściwość ta umożliwia zastosowanie ich do zwalczania wszystkich stadiów rozwojowych, zarówno żerujących (larwy, niektóre *imagines*), jak również nieżerujących (w tym poczwarki). Grzyby entomopatogenne stosowane są do zwalczania szkodliwych owadów powodujących straty w uprawach, ogrodnictwie i hodowli zwierząt, jak również owadów będącymi wektorami wielu chorób (SCHOLTE i współaut. 2004, KHAN i współaut. 2012, ULLAH i współaut. 2019, SANI i współaut. 2020). Ta grupa organizmów charakteryzuje się wysoką wybiórczością działania, dlatego są bezpieczne dla organizmów pożytecznych, np. pszczoł (BAVA i współaut. 2022), a także dla naturalnych wrogów owa-

Słowa kluczowe: grzyby entomopatogenne, hemocyty, kutikula, odpowiedź typu humoralnego, owady szkodliwe

Informacje o źródłach finansowania: Narodowe Centrum Nauki, grant numer 2021/05/X/NZ3/00004 (kierownik projektu dr Agata Kaczmarek) 2021/05/X/NZ6/00951 (kierownik projektu dr Justyna Sobich), UMO-2019/35/D/NZ6/01685 (kierownik projektu dr Anna Katarzyna Wrońska), 2020/39/O/NZ6/00447 (kierownik grantu prof. dr hab. Mieczysław Irena Boguś).

dów. Oprócz zabijania szkodników, jednocześnie zmniejszają liczbę patogenów roślinnych i nicieni pasożytujących na roślinach. Mogą również pełnić funkcję bionawozu. Komercyjne biopestycydy bazują na metabolitach produkowanych przez *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Isaria fumosorosea* i *Lecanicillium* spp. Właściwości entomopatogenne przykładowych gatunków grzybów zostały przedstawione w Tabeli 1.

Istotną zaletą grzybów pasożytujących na owadach są ich interakcje z roślinami, które stały się przedmiotem licznych badań. Do tej grupy zaliczamy m.in.: *Beauveria bassiana*, *Lecanicillium* spp., *Purpureocillium lilacinum* i *Metarhizium* spp. (OWNLEY i współaut. 2010, SASAN i BIDCHKA 2012, LOPEZ i SWORD 2015, GREENFIELD i współaut. 2016).

Grzyb *B. bassiana* jest wykorzystywany do kontrolowania populacji przeziernki prosowianki (*Ostrinia nubilalis*), powszechnego szkodnika upraw kukurydzy (*Zea mays*) (WAGNER i LEWIS 2000). Niedawne badania wykazały, że „zaszczepienie” tego grzyba w glebie powoduje zmianę jej flory bakteryjnej, jednocześnie użyźniając glebę i zwiększając przyrost roślin. Autorzy tych badań nazywają *B. bassiana* „probiotykiem” dla roślin ze względu na jego właści-

wości, choć zastosowanie tego grzyba daje pożądane efekty jedynie w wąskim spektrum warunków środowiskowych (TALL i MEYLING 2018). CHANG i współaut. (2021) udowodnili, iż zmiany w glebie wywołane przez *B. bassiana* wpływają nie tylko na rozwój *Z. mays*, ale także wzmacniają odporność tych roślin na choroby, np. żółtą plamistość liści kukurydzy (ang. northern corn leaf blight, NCLB) wywoływaną przez grzyby z gatunku *Exserohilum turcicum*.

Innym interesującym gatunkiem grzyba jest *Metarhizium* spp. Organizm ten wpływa na niektóre gatunki roślin (m.in. pomidory i kukurydzę) promując ich wzrost (GONZÁLEZ-PÉREZ i współaut. 2022). Z drugiej strony, *M. brunneum* porażając korzenie kapusty (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *alba* cv. *Castello* L.) modyfikuje roślinę w taki sposób, iż staje się ona bardziej atrakcyjna dla owadów z gatunku *Delia radicum* L., co może stanowić przeszkodę w wykorzystaniu tego grzyba jako środka ochrony upraw (COTES i współaut. 2020).

Niektóre źródła wskazują, iż rola grzybów entomopatogennych w rozwoju roślin może być dużo większa, jednak mechanizmy tych interakcji nie zostały jeszcze poznane i wciąż wymagają wielu badań (DARA 2019).

Tabela 1. Przykłady infekowania owadów przez entomopatogenne grzyby.

Nazwa grzyba entomopatogennego	Przykładowa grupa docelowa owadów	Odniesienie literaturowe
<i>Aschersonia aleyrodis</i> (Webber) <i>Aegerita webberi</i> (Fawcett)	mączka cytrusowa (<i>Aleurocanthus woglumi</i>); mączlik (<i>Bemisia tabaci</i>); mączlik cytrusowy (<i>Dialeurodes citri</i>)	ZHANG i współaut. 2018, INGLE i współaut. 2022, PRAYOGO i współaut. 2022
<i>Beauveria bassiana</i> <i>Beauveria brongniartii</i>	owady z rzędu Heteroptera (<i>Picromerus bidens</i> , <i>Anthocoris nemorum</i>), Homoptera (<i>Eulecanium</i> spp.), Lepidoptera (<i>Hepialus</i> spp., <i>Hypocrita jacobaea</i> , <i>Cydia nigricans</i>), Coleoptera (<i>Lathrobium brunnipes</i> , <i>Calvia quattuordecimguttata</i> , <i>Phytodectra olivacea</i> , <i>Otiorhynchus sulcatus</i> , <i>Sitona lineatus</i> , <i>S. sulcifrons</i> , <i>S. macularius</i> , <i>S. hispidulus</i> , <i>Anthonomus pomorum</i> , <i>Hylaster ater</i>), Hymenoptera (<i>Ichneumonidae</i> , <i>Lasius fuliginosus</i> , <i>Vespula</i> spp., <i>Bombus pratorum</i>), Diptera (<i>Leria serrata</i>)	ZIMMERMANN 2007a, UMA DEVI i współaut. 2008, WANG i współaut. 2018
<i>Conidiobolus coronatus</i>	barczatka sosnowa (<i>Dendrolimus pinii</i>), konik brunatny (<i>Chorthippus brunnei</i>), dołczan wysmukły (<i>Stenobothrys lineatus</i>) i mól woskowy (<i>Galleria mellonella</i>)	BOGUŚ i współaut. 2007, BOGUŚ i SCHELLER 2002, WROŃSKA i współaut. 2018b
<i>Hirsutella thompsonii</i>	owady z rzędu Lepidoptera i Hemiptera	REDDY i współaut. 2020
<i>Isaria fumosorosea</i>	owady uważane za szkodniki cytrusów	HUNTER i współaut. 2011, BUGTI i współaut. 2018
<i>Lecanicillium longisporum</i> <i>Lecanicillium muscarium</i>	mszyce (<i>Sipha maydis</i> , <i>Metopolophium dirhodum</i> , <i>Myzus persicae</i>), wciornastek zachodni (<i>Frankliniella occidentalis</i>), mączlik ostroskrzydły (<i>Bemisia tabaci</i>), męczennica zwyczajna (<i>Scolypopa australis</i>), hemlock wełnisty (<i>Adelges tsugae</i>)	DOWN i współaut. 2009, FADAYIVATA i współaut. 2014, ZARE i GAMS 2001, MARSHALLI współaut. 2003, GOETTEL i współaut. 2008, RODITAKIS i współaut. 2008
<i>Metarhizium anisopliae sensu lato</i> <i>Metarhizium acridum</i>	owady z rzędu Orthoptera, Dermaptera, Isoptera, Homoptera, Heteroptera, Diptera, Coleoptera, Hymenoptera, Siphonaptera i Lepidoptera	ZIMMERMANN 1993, ZIMMERMANN 2007b, NUSSENBAUM i LECUONA 2012
<i>Nomuraea rileyi</i>	owady z rzędu Lepidoptera	FRONZA i współaut. 2017

CZYNNIKI HAMUJĄCE ROZWÓJ ORGANIZMÓW ENTOMOPATOGENNYCH

Gatunek owada i stadium rozwojowe są wstępnymi czynnikami warunkującymi jego podatność na infekcję patogenem. Owady żyjące w dużych społecznościach są zdolne do rozróżniania wirulentnych i niewirulentnych gatunków grzybów, np. termity (*Macrotermes michaelseni*) mogą rozróżniać wirulentne szczepy *M. anisopliae* i *B. bassiana* na podstawie lotnych związków organicznych, produkowanych przez te gatunki (MBURU i współaut. 2011, 2013). Poza tym, owady mogą rozpoznawać osobniki zainfekowane, np. mrówki z gatunku *Formica selysi* i *Lasius neglectus* w obecności entomopatogenów zwiększają poziom higieny i wytwarzają związki odkażające, takie jak peptydy antydrobnoustrojowe czy kwas mrówkowy (TRAGUST i współaut. 2013).

Owady w toku ewolucji wykształciły trzy główne mechanizmy obronne: bariery anatomiczno-fizjologiczne, mechanizmy obrony komórkowej i mechanizmy obrony humoralnej. W trakcie ewolucji poszczególne gatunki owadów inwestują albo w budowę kutikuli albo w mechanizmy humoralne i komórkowe.

BARIERY ANATOMICZNO-FIZJOLOGICZNE

Bardzo ważnym elementem obronnym przed zakażeniem jest okrywa ciała, którą stanowi kutikula, czyli integument wysycony chityną. Dodatkowo, chityną są wysielone: jelito przednie, tylne i tchawki. Jelito środkowe, ze względu na pełnione funkcje trawienne, zabezpieczone jest przed infekcją przez obecność enzymów proteolitycznych i bakterii symbiotycznych ułatwiających trawienie. Te mechanizmy zaangażowane w trawienie treści pokarmowej, stwarzają niekorzystne warunki dla rozwoju chorobotwórczych czynników. Przerwanie ciągłości kutikuli prowadzi do utraty homeostazy organizmu, co przejawia się wyciekami płynów fizjologicznych lub treści jelita. Zaburzenie integralności powłok ciała otwiera wrota zakażenia dla patogenów. Kolejnymi etapami w walce o przeżycie organizmu jest zagojenie powstałej rany i włączenie pozostałych mechanizmów obronnych w postaci odpowiedzi humoralnej i komórkowej (BALABANIDOU i współaut. 2018).

W procesach obronnych owadów przed entomopatogenami kluczową rolę odgrywa kutikula, nazywana również szkieletem zewnętrznym. Kutikula zbudowana jest głównie z białek stanowiących około 70% wszystkich jej składników. Pozostałą częścią są chityna i lipidy, takie jak wolne kwasy tłuszczowe, estry

woskowe, estry kwasów tłuszczowych i acyloglicerole (ANDERSEN 1979).

Grubość i twardość to główne cechy kutikuli umożliwiające sprawne zapobieganie infekcji. HAJEK i ST LEGER (1994) sugerują, że odporność owadów na grzyby chorobotwórcze jest zależna od grubości kutikuli, stopnia jej usieciowania z białkami oraz stopnia stwardnienia pokrywy ciała. Pierwszą warstwą kutikuli narażoną na patogeny jest epikutikula, zawierająca utwardzone lipoproteiny, w których znajdują się związki fenolowe i fenoloksydazy. Białka to zewnątrzkomórkowe enzymy hydroksylujące tyrozynę i utleniające o-difenole do chinonów. Chinony przechodzą następnie szereg reakcji enzymatycznych i nieenzymatycznych umożliwiających polimeryzację prowadzącą do syntezy melaniny (NARAYANAN 2004, GORMAN i współaut. 2007). W obecności entomopatogenu, związki fenolowe utleniają się do dihydroksyfenyloalaniny, co wywołuje brązowo-czarną pigmentację. Melanina chroni kutikulę przed enzymami i toksynami wytwarzanymi przez grzyby (HAJEK i ST LEGER 1994).

Obecność w kutikuli poszczególnych lipidów może działać hamująco lub stymulująco na proces adhezji zarodników, co może skutkować zmniejszoną lub zwiększoną efektywnością działania poszczególnych entomopatogenów (BOUCIAS i PENDLAND 1984, BOUCIAS i współaut. 1988, AKBAR i współaut. 2004, ORTIZ-URQUIZA i KEYHANI 2013). Hydrofobowy charakter epikutikuli jest czynnikiem sprzyjającym adhezji zarodnika. Jednak owady wykształciły szereg adaptacji hamujących proces przyłączania zarodnika, np. książnice z gatunku *Liposcelis bostrychophila* odkładają na powierzchni oskórka amidy kwasów tłuszczowych, które zapobiegają przyczepianiu się konidiów do ciała owada (LORD i HOWARD 2004). Lipidy kutikularne mogą działać toksycznie i fungistatycznie, np. u *Nezara viridula* lipidy występujące w szkielecie zewnętrznym hamują rozwój *M. anisopliae*, a ich toksyczność wobec *B. bassiana* została potwierdzona u słonecznicy amerykańskiej (*Heliothis zea*) (SMITH i GRULA 1982, SOSA-GOMEZ i współaut. 1997). Działanie antygrzybiczne wykazują również substancje wydzielane na okrywy ciała. Chrzaszcz wierzbowy [*Phratora vitellinae* (L.)] uwalnia lotne związki tworzące „chmurę” otaczającą owada, a jej głównym składnikiem jest aldehyd salicylowy (GROSS i współaut. 2008). Z kolei wydzielina gruczołowa u larw i postaci dorosłych chrząszcza gorczycy (*Phaedon cochleariae*) zawiera irydoidy, które wykazują działanie przeciugrzybicze przeciwko *B. bassiana* (GROSS i współaut. 1998). Hamujące działanie na poszczególne entomopatogeny wydzielają również wolne kwasy tłuszczowe znajdujące się na powierzchni kutikuli u różnych gatunków Lepi-

doptera i Diptera (SMITH i GRULA 1982; SAITO i AOKI 1983; BOGUŚ i współaut. 2010; GOŁĘBIEWSKI i współaut. 2011, 2013a, b, 2014a, b, 2015; URBANEK i współaut. 2012).

UKŁAD ODPORNOŚCIOWY OWADÓW

Rozpoznanie jest pierwszą reakcją układu odpornościowego na obecność mikroorganizmów patogennych. U owadów etap ten jest możliwy dzięki cząsteczkom określanym jako PRRs (ang. pattern recognition receptors). Białka te rozpoznają tzw. wzorce molekularne związane z patogenem (ang. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) (PAULA i współaut. 2011). W większości przypadków wzorcem molekularnym są składniki błony lub ściany komórkowej, np. LPS (ang. lipopolysaccharide) czy peptydoglikan (BULET i współaut. 1999). Cząsteczki te są rozpoznawane przez humoralne lub komórkowe PRRs. Humoralne receptory PRRs, m.in. wiążące mannozę, rozpoznają specyficzne wzorce molekularne. Reakcja ta umożliwia wystąpienie procesu opsonizacji „antygeny”. W ten sposób „wyznakowane” komórki są rozpoznawane przez hemocyty. Komórki immunokompetentne na swojej powierzchni mogą również posiadać receptory PRR. Umożliwia im to rozpoznanie wzorców molekularnych na powierzchni „antygenów”, co prowadzi do włączenia szlaków sygnalizacyjnych Toll i/lub IMD (IMLER i HOFFMANN 2000). Innym przykładem komórkowego receptora PRRs mogą być integryny. Jest to rodzina białek transbłonowych, mających postać heterodimeru (,). Ułożenie łańcuchów i warunkuje specyficzność ligandu. W komórkach ssaczych receptory te wiążą białka macierzy pozakomórkowej lub składniki błony komórkowej bakterii, takie jak LPS (GONZÁLEZ-AMARO i SÁNCHEZ-MADRID 1999). U *Drosophila* wykazano występowanie trzech integryn zawierających pięć łańcuchów i dwa łańcuchy . Białka te nie są zaangażowane w proces rozpoznawania organizmów obcych u muszki owocowej. Pełnią natomiast kluczową rolę podczas rozwoju muchówek (HYNES i ZHAO 2000). W przypadku infekcji grzybiczej wzorcem molekularnym może być -1,3-glukan ścian komórkowych. W hemolimfie owadów znajdują się białka rozpoznające ten związek, nazywane -GBP (ang. -glucan binding proteins).

ODPOWIEDŹ TYPU KOMÓRKOWEGO

U owadów występują mechanizmy odporności wrodzonej, która jest komórkowa i humoralna. Podział ten jest częściowo arbitralny, ponieważ wiele czynników humoralnych wpływa na funkcjonowanie hemocytów, które z kolei

są źródłem cząsteczek zaangażowanych w odpowiedź typu humoralnego. Te dwa procesy są od siebie zależne, a ich ścisła współpraca umożliwia efektywną walkę z patogenem (LAVINE i STRAND 2002, STRAND 2008).

Dane literaturowe donoszą o występowaniu u owadów zjawiska tzw. piętnowania układu immunologicznego (ang. immune priming). Proces ten wiąże się z wykształcaniem swego rodzaju „pamięci immunologicznej” u osobników po pierwszym kontakcie z patogenem i skutkuje zwiększeniem przeżywalności po ponownym kontakcie z patogenem (MOWLDS i współaut. 2010, BROWNE i współaut. 2013, COOPER i ELEFTHERIANOS 2017). Pobudzenie odporności tego typu u *G. mellonella* zostało dobrze udokumentowane w ostatnich latach, ale dokładny mechanizm leżący u podstaw tego procesu i poziom jego swoistości jest nadal słabo poznany (TULI i RESSOM 2009). Reakcja ta może być powiązana ze wzrostem krążących w hemolimfie hemocytów i zwiększoną zawartością peptydów przeciwdrobnoustrojowych (ang. insect antimicrobial, peptides AMPs), wykazujących silne działanie przeciwbakteryjne lub przeciwgrzybicze (FALLON i współaut. 2011, YI i współaut. 2014, YUN i LEE 2016). Zwiększona liczebność hemocytów wynika z uwalniania komórek immunokompetentnych z powierzchni narządów wewnętrznych owada, a także z wewnętrznej powierzchni kutikuli (BERGIN i współaut. 2006, MATHA i ÁČEK 2010, BROWNE i współaut. 2014). „Immune priming” u owadów zapewnia ochronę przed postępującą infekcją, ale indukcja i utrzymanie tego procesu mogą być metabolicznie kosztowne (SHEEHAN i współaut. 2021). Dane literaturowe wskazują, iż u larw *G. mellonella* inkubowanych z termicznie inaktywowanymi komórkami bakteryjnymi lub drożdżowymi, występuje większa odporność na infekcje bakteryjne i grzybicze, podczas gdy larwy, którym podano komórki grzybowe w iniekcji, wykazywały odporność tylko na późniejszą infekcję grzybiczą. Może to wskazywać na poziom swoistości odpowiedzi immunologicznej, zapewniający maksymalne przeżycie (SHEEHAN i współaut. 2021).

W odpowiedzi typu komórkowego zaangażowane są hemocyty, główne komórki immunokompetentne u owadów. Hemocyty biorą udział w takich procesach jak fagocytoza, nodulacja i enkapsulacja w walce z patogenem (STRAND i PECH 1995, SCHMIDT i współaut. 2001). Patogen jest rozpoznawany przy pomocy receptorów występujących na powierzchni komórek odpornościowych bądź też opsonin. Białka te występują w hemolimfie i wiążą się z „antygenami”. Rozpoznanie patogenu prowadzi do reorganizacji cytoszkieletu hemocytów, dzięki czemu komórki te przemieszczają się do miejsca wniknięcia patogenu i eliminują mikro-

organizmy drogą fagocytozy, nodulacji i enkapsulacji. Dane literaturowe sugerują, że patogeny grzybowe, np. *M. anisopliae* lub *B. bassiana*, zaburzają reorganizację cytoszkieletu w hemocytach, co zaburza prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego (GRIESCH i VILCINSKAS 1998).

U *G. mellonella* wyróżnia się 5 rodzajów hemocytów: prohemocyty, plazmatocyty, granulocyty, sferulocyty i oenocytydy (WOJDA 2017). Plazmatocyty i granulocyty są komórkami adherentnymi, tzn. mającymi zdolność do opłaszczania ciał obcych. Plazmatocyty, w warunkach *in vivo*, mają kształt okrągły lub owalny. Po przeniesieniu do warunków *in vitro*, wytwarzają charakterystyczne liczne, długie pseudopodia. Struktury te tworzą sieci. U większości Lepidoptera plazmatocyty pozbawione są granul (MEISTER i LAGUEUX 2003). Wyjątkiem są plazmatocyty *G. mellonella*, w których ziarnistości mogą być obecne (SCHMIT i RATCLIFFE 1977). Komórki te mają zdolność tworzenia nodul (w przypadku, gdy do organizmu dostaną się duże skupiska bakterii) i kapsuł (zamykane są w nich duże ciała obce, np. jaja pasożytów). Takie działanie pozwala na izolację patogenu oraz zapobiega jego dalszemu rozwojowi w ciele owada (LAVINE i STRAND 2002). Hemocyty granularne, inaczej granulocyty, w warunkach *in vivo* występują w postaci komórek sferycznych. Wewnątrz hemocytów występują trzy typy granul (BREHÉLIN i ZACHARY 1986). Pierwszy z nich to struktury o nieregularnym kształcie, powstające z połączenia fagosomów i lizosomów, które zawierają hydrolazy syntetyzowane w aparacie Golgiego (RIBEIRO i współaut. 1996). Dwa pozostałe typy (granule gęste i strukturalne) to struktury o regularnym kształcie, zawierające wyłącznie substancje syntetyzowane w aparacie Golgiego (RIBEIRO i BREHÉLIN 2006). W hodowli w warunkach *in vitro* na powierzchni komórki widoczne są pseudopodia i lameliopodia. Główną funkcją granulocytów jest fagocytoza. Komórki te również biorą udział w procesie enkapsulacji i nodulacji. Po rozpoznaniu ciała obcego komórki uwalniają granule (RATCLIFFE i GAGEN 1977). Ich zawartość może być sygnałem przyciągającym plazmatocyty do miejsca infekcji (GILLESPIE i współaut. 1997), może także pełnić funkcje pomocnicze podczas syntezy kapsuł lub nodul (PECH i STRAND 1996). Jedną z substancji uwolnionych z granul są opsoniny, które mają zdolność do opłaszczania ciał obcych (opsonizacji) i ułatwiają zajęcie fagocytozy.

Pozostałe nieadherentne typy komórek immunokompetentnych to: sferulocyty, oenocytydy i prohemocyty. Sferulocyty to okrągłe komórki zawierające sferule (RIBEIRO i współaut. 1996). Dane literaturowe sugerują, że ten typ komórek jest odpowiedzialny za

transport składników kutikularnych (SASS i współaut. 1994). Oenocytydy w warunkach *in vivo* to duże komórki o średnicy większej niż 25 µm o regularnym kształcie (RIBEIRO i BREHÉLIN 2006), które w hodowli komórkowej ulegają szybkiemu rozpadowi (STRAND i NODA 1991). Oenocytydy zawierają prekursory do syntezy oksydazy fenolowej (ASHIDA i współaut. 1988). Związki te są odpowiedzialne za proces melanizacji (RIBEIRO i współaut. 1996). Prohemocyty są uważane za prekursory pozostałych komórek immunokompetentnych (RIBEIRO i współaut. 1996). Badania wykazują spadek liczby hemocytów tej klasy w wyniku infekcji grzybiczej, np. u termitów wilgotnych (*Zootermopsis angusticollis*) w wyniku infekcji *M. anisopliae* (AVULOVA i ROSENGAUS 2011) czy u tak zwanych szkodników słonecznych *Eurygaster integriceps* po podaniu *B. bassiana* (ZIBAEE i współaut. 2011).

Wymienione powyżej typy hemocytów są charakterystyczne dla większości owadów. Dodatkowo, niektóre źródła wskazują też na występowanie u *G. mellonella* tzw. koagulocytów jako osobnej klasy hemocytów (TREVIJANO-CONTADOR i ZARAGOZA 2019). Jako główną funkcję przypisuje się im wpływ na krzepnięcie hemolimfy, co stanowi istotny czynnik w obronie przed patogenami, gdyż jest to pierwsza faza odpowiedzi indukowana przez owady po ekspozycji na drobnoustroje (BROWNE i współaut. 2013, TSAI i współaut. 2016, TREVIJANO-CONTADOR i ZARAGOZA 2019).

Komórki immunokompetentne wykształcone przez *Drosophila* są charakterystyczne dla tego rodzaju. Uważa się, że lamellocyty i komórki krystaliczne występują tylko u tych owadów (MEISTER i LAGUEUX 2003). Lamellocyty są odpowiednikami plazmatocytów występujących u Lepidoptera. W warunkach *in vivo* mają okrągły, regularny kształt z niewielkimi pseudopodiami. W hodowli komórkowej występują w postaci płaskich, wydłużonych komórek. Zawierają nodule i kapsuły, w których syntetyzują struktury podobne do desmosomów (RUSSO 1996) wytwarzanych w plazmatocytach Lepidoptera (GÖTZ 1986). Lamellocyty zaangażowane są w enkapsulację patogenów i nieprawidłowych tkanek własnych. Plazmatocyty u *Drosophila* wyglądem przypominają granulocyty występujące w hemolimfie motyli. Pełnią również podobne funkcje – są zaangażowane w proces fagocytozy (LANOT i współaut. 2001). Hemocytami podobnymi do oenocytydów, zarówno strukturalnie, jak i pełniącymi podobne funkcje, są u *Drosophila* komórki krystaliczne (RIZKI 1957). Są to duże komórki o regularnym kształcie, w których cytoplazmie widoczne są liczne rybosomy i słabo rozwinięta siateczka śródplazmatyczna (RIBEIRO i BREHÉLIN 2006). Podobnie jak u Lepidoptera, w komór-

kach tych występują inkluzje krystaliczne, w których przechowywany jest prekursor fenyllooksydazy, czyli profenolooksyda. Oksydaza fenolowa jest enzymem zaangażowanym w proces melanizacji (RIZKI i RIZKI 1959). Inkluzje krystaliczne ulegają bardzo szybko lizie w hodowli *in vitro* (RIBEIRO i BREHÉLIN 2006).

Dane literaturowe wskazują na występowanie u larw *G. mellonella* mechanizmu tworzenia pułapek zewnątrzkomórkowych (ang. extracellular traps, ETs). Mechanizm pułapek zewnątrzkomórkowych, a właściwie neutrofilowych pułapek zewnątrzkomórkowych (ang. neutrophil extracellular traps, NETs) został opisany po raz pierwszy w 2004 r. u ssaków (BRINKMANN i współaut. 2004). Jest on uważany za mechanizm odpowiedzi immunologicznej nie tylko występujący od setek lat, ale także silnie ewolucyjnie konserwatywny (ROBB i współaut. 2014). ETs są to pozakomórkowe sieci kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA), histonów i zawartości granuli uwalniane przez neutrofile, które wychwytyują i zabijają drobnoustroje, w tym bakterie i grzyby (BRINKMANN i współaut. 2004, URBAN i współaut. 2006). Proces uwalniania NET uważany jest za aktywną formę śmierci neutrofilu, odrębną od apoptozy i nekrozy, i nazywany NETozą (BRINKMANN 2018). Unieruchomienie drobnoustrojów przez NET zapobiega ich rozprzestrzenianiu się do innych miejsc w ciele gospodarza. Aktywność przeciwdrobnoustrojową NET przypisuje się toksycznej zawartości granuli neutrofilowych (np. elastazy neutrofilowej, mieloperoksydazy, lizozymu i defensyn), histonów i DNA (BRINKMANN 2018). Dwie znane formy NETozy powodują albo lizę neutrofilu po uwolnieniu NET (NEToza samobójcza), albo tworzenie się neutrofilu bezjądrowych, które pozostają nienaruszone i funkcjonalne (NEToza przyżyciowa) (YIPP i KUBES 2013). Samobójcza NEToza może być indukowana przez patogeny z udziałem receptorów występujących na powierzchni komórek (np. receptory Toll-like, receptory Fc, itp.). Aktywacja receptora stymuluje uwalnianie jonów wapnia (Ca^{2+}) z siateczki śródplazmatycznej do cytoplazmy. Podwyższony poziom Ca^{2+} w cytoplazmie aktywuje kinazę białkową C (PKC) i kompleks oksydazy NADPH (fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego) oraz wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS). ROS rozrywają granule cytoplazmatyczne i otoczkę jądrową, co powoduje zmieszanie się zawartości granuli z nukleoplazmą. Enzymy z granuli: elastaza neutrofilowa, mieloperoksydaza i deiminaza peptydylo-argininowa 4, wchodzi do jądra i wspólnie indukują dekondensację chromatyny. Wreszcie błona komórkowa pęka i uwalnia NET do przestrzeni pozakomórkowej (BRINKMANN 2018). Samobójcza NEToza może być również indukowana chemicznie przez akty-

wator PKC 12-mirystynian 13-octanu forbolu (PMA) lub drobnoustrojowe składniki powierzchniowe (np. lipopolisacharydy) (BRINKMANN i współaut. 2004). Mechanizmy biochemiczne stojące za przyżyciową NETozą pozostają do tej pory nieznane. NETs są uwalniane w procesie egzocytozy poprzez pączkowanie pęcherzyków transportujących DNA z jądra do błony komórkowej. Proces ten jest niezależny od ROS i przebiega szybciej niż samobójcza NEToza. Neutrofile, które przeszły przyżyciową NETozę, zachowują integralność błony komórkowej, jak również zdolność adhezji, chemotaksji, degranulacji i fagocytozy (PIŁSCZEK i współaut. 2010). Udokumentowano również inną formę przyżyciowej NETozy, polegającą na uwalnianiu mitochondrialnego DNA zamiast DNA jądrowego (YOUSEFI i współaut. 2009). Niewiele jest doniesień o występowaniu tego mechanizmu u owadów. W 2008 r. ALTINICZEK i współaut. (2008) udowodnili istnienie ochronnego działania zewnątrzkomórkowego RNA (i prawdopodobnie DNA) u *G. mellonella* podczas infekcji bakteryjnej. Z kolei w 2021 r. udokumentowano występowanie ETozy w hemocytach *G. mellonella* zarówno *in vivo*, jak i *ex vivo* (CHEN i KEDDIE 2021). Praca ta dostarcza dowodów na występowanie IHET (ang. insect hemocyte extracellular traps) *in vivo*, który to mechanizm prawdopodobnie współdziała z koagulacją i melanizacją hemolimfy, unieruchamiając i zabijając drobnoustroje. Wyniki badań przeprowadzonych przez CHEN i KEDDIE (2021) wskazują, że IHET są uwalniane przez hemocyty *G. mellonella* i zapewniają owadom ochronę przed zakażeniem hemocelu przez EPEC (dzikim enteropatogennym typem *E. coli*; serotyp E2348/69 O127:H6), potwierdzając hipotezę, że hemocyty owadów uwalniają pułapki zewnątrzkomórkowe jako odpowiedź immunologiczną, która chroni owady przed zakażeniem hemocelu przez drobnoustroje, co czyni system *Galleria*-EPEC nowym modelem do badania pułapek zewnątrzkomórkowych.

ODPOWIEDŹ TYPU HUMORALNEGO

Odpowiedź komórkowa wspomagana jest przez mechanizmy odpowiedzi humoralnej. Rozpoznanie antygeny przez PRRs aktywuje kaskadę sygnałową. W wyniku jej aktywności dochodzi do transkrypcji genów kodujących białka efektorowe, których pula w hemolimfie zależy od danego patogenu (IRVING i współaut. 2001). Są to m.in. peptydy przeciwdrobnoustrojowe (MEISTER i współaut. 2000). Kaskady enzymatyczne regulują również proces koagulacji i melanizacji oraz produkcję reaktywnych form tlenu i azotu (CLARK 2020).

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe syntetyzowane są w ciele tłuszczowym (HANCOCK

i współaut. 2006). U niektórych owadów, np. u komara *A. aegypti*, peptydy te są również syntetyzowane przez hemocyty w odpowiedzi na infekcję (LOWENBERGER 2001). Peptydy przeciwdrobnoustrojowe podzielono na trzy grupy ze względu na sekwencję aminokwasową i strukturę: (1) cekropiny, linearne peptydy z -helisą, ale bez reszt cysteinowych, (2) defensyny z 6–8 konserwatywnymi resztami cysteiny, mające stabilizujący układ 3 lub 4 mostków dwusiarczkowych i 3 domen składających się z elastycznej pętli na końcu aminowym i (3) peptydy z nadreprezentacją reszt proliny i/lub glicyny (MAKAROVA i współaut. 2018). Najszerzej w literaturze opisano siedem rodzin tych białek zidentyfikowanych u *Drosophila* (attacyny, cekropiny, defensyna, dipterycyny, drosocyna, drosomycyny i miecznikowina) (LAZZARO i współaut. 2020). Natomiast u *G. mellonella* do tej pory scharakteryzowano 18 takich białek, z których pięć szeroko przebadano (cekropiny, gallerimycyna, galiomycyna, białka podobne do morcyny i białko podobne do gloveriny) (SHEEHAN i współaut. 2018). Większość białek AMP wykazuje działanie antybakteryjne, ale są też wśród nich takie o działaniu przeciugrzybiczym. Należą do nich drosomycyna (z *Drosophila melanogaster*), heliomycyna (z *Heliothis virescens*), termycyna (z *Pseudocanthothermes spiniger*), gallerimycyna (z *G. mellonella*) (HEGEDÜS i MARX 2013) oraz AP2 (ang. anionic peptide 2; z *G. mellonella*) (SOWA-JASIEŁEK i współaut. 2020).

Dane literaturowe sugerują istnienie co najmniej dwóch szlaków sygnalizacyjnych, uruchamiających syntezę tych białek. Są to szlak Toll i szlak Imd (NISHIDE i współaut. 2019, NUNES i współaut. 2021). Ich współdziałanie w odpowiedzi immunologicznej owadów na zakażenie świadczy o komplementarności funkcji obronnych owadów przed infekcją.

Receptory Toll poznano po raz pierwszy przy okazji badania polaryzacji brzuszno-grzbietowej larw *D. melanogaster* (BELVIN i ANDERSON 1996). Szerokie analizy filogenetyczne wykazały występowanie szlaku Toll u wielu organizmów, od pierwotniaków po ssaki (BRENNAN i GILMORE 2018). Szlak ten jest uruchamiany w odpowiedzi na infekcje wywołane przez Gram-dodatnie bakterie lub grzyby oraz kontroluje ekspresję genów kodujących białka wykazujące właściwości antybakteryjne i antygrzybicze (SHIN i współaut. 2006, GENG i współaut. 2021). Rozróżnienie pomiędzy bakteriami Gram-dodatnimi i Gram-ujemnymi jest możliwe dzięki różnej budowie peptydoglikanu (ang. peptidoglycan, PGN) występującego na powierzchni błony komórkowej. PGN u bakterii Gram-dodatnich zawiera w części peptydowej reszty lizyny (PGN-Lys). Ten wzorzec molekularny jest rozpoznawany przez receptory PGRP-SA (ang. pep-

tidoglycan recognition protein SA) i PGRP-SD (ang. peptidoglycan recognition protein SD) (HOU i współaut. 2020), które są pierwszymi białkami w szlaku sygnalizacyjnym Toll podczas infekcji bakteryjnej (WOLF i UNDERHILL 2018). W przypadku infekcji grzybiczej białko GNBP3 (ang. Gram-negative binding protein 3) wykrywa beta-1,3-glukan, składnik ściany komórkowej grzyba, i uruchamia trzostopniową kaskadę proteaz serynowych w celu aktywacji szlaku Toll (STOKES i współaut. 2015, ZHENG i współaut. 2020).

Prawdopodobnym ligandem dla Toll jest Spaetzle (Spz). Białko to występuje w hemolimfie w formie nieaktywnej cytokiny pro-Spz. Jego aktywacja polega na rozszczepieniu tego probiałka przez proteazę serynową SPE (ang. Spaetzle processing enzyme) (RAHIMI i współaut. 2019, ZHENG i współaut. 2020). Przyłączenie Spz do transbłonowego receptora Toll, występującego na powierzchni komórek ciała tłuszczowego, aktywuje wewnątrzkomórkową kaskadę sygnałową. W jej skład wchodzi m. in. białka adaptorowe: dMyD88 i Tube oraz kinaza Pelle. W wyniku ich aktywacji dochodzi do fosforylacji białka Cactus (homologicznego do białka I- β). Białko to tworzy kompleks z czynnikami transkrypcyjnymi Dif i Dorsal. Jego fosforylacja prowadzi do uwolnienia czynników transkrypcyjnych i przemieszczenia się ich do jądra komórkowego (CARVALHO i współaut. 2014, CHOWDHURY i współaut. 2019, SARVARI i współaut. 2020, ZHANG i współaut. 2021). Tam następuje transkrypcja genów kodujących AMP (YU i współaut. 2020, ZHANG i współaut. 2021).

Peptydoglikan bakterii Gram-ujemnych charakteryzuje się obecnością kwasu mezo-diaminopimelinowego (PGN-Dap). Ten wzorzec molekularny zostaje przyłączony przez receptor PRGP-LC (ang. peptidoglycan recognition protein LC) występujący na powierzchni komórek ciała tłuszczowego (LIU i współaut. 2020). Receptor ten jest pierwszym białkiem w szlaku Imd. Jego dimeryzacja daje początek kaskadzie sygnałowej (WANG i współaut. 2019), polegającej na przyłączeniu białka Imd (homologicznego do białka RIP u ssaków, ang. receptor-interacting protein). Następnie dochodzi do połączenia kinazy dFADD z kaspazą Dredd (homologiczną do kaspazy 8 u ssaków). Kompleks ten aktywuje kinazy: TAK1 (ang. TGF-beta activated kinase 1) i MAPK, które z kolei przenoszą sygnał na kompleks IKK (ang. I κ B kinase), w którego skład wchodzi Ird5 i Kenny. Powoduje on rozszczepienie N-terminalnej części białka Relish (GOTO i współaut. 2018). Aktywna forma tego białka przechodzi do jądra komórkowego, gdzie reguluje transkrypcję genów kodujących peptydy przeciwdrobnoustrojowe (DE GREGORIO i współaut. 2002).

Kolejnym mechanizmem odpowiedzi humoralnej jest układ oksydazy fenolowej (PO), enzymu należącego do klasy oksydoreduktaz, którego główną funkcją jest utlenianie fenoli. U owadów białko to występuje w postaci proenzymu (proPO) i może być homodimerem, np. PPO8 z *Anopheles gambiae* lub heterodimerem, o masie ok. 160 kDa, jak proPO1 i proPO2 z *Manduca sexta* czy *Bombyx mori* (LU i współaut. 2014). Synteza proPO u owadów odbywa się przede wszystkim w różnych typach hemocytów. U *D. melanogaster* są to komórki krystaliczne, u komarów enocytoidy i granulocyty, a u Lepidoptera (*G. mellonella*) enocytoidy (CLARK 2020). Powstanie aktywnej PO wymaga uruchomienia kaskady proteaz serynowych, nazywanej układem PO. Aktywowany jest on przez PAMPs, które obecne są w ścianie komórkowej bakterii i grzybów. Należą do nich LPS, PGN i -1,3-glukan. Rozpoznanie PAMPs przez receptory PRRs, takie jak GRP (ang. -glucan recognition protein), LGRP (ang. LPS i -1,3-glucan recognition protein), PGRP, czy lektyny typu C, prowadzi do uruchomienia kaskady proteaz serynowych (ZHAO i współaut. 2018, STĄCZEK i współaut. 2021). Końcowym etapem tej kaskady jest aktywacja proPO do PO przez proteazę aktywującą prooksydazę fenolową. Układ PO mogą aktywować również cząsteczki endogenne, takie jak lipidy amfifilowe (lizofosfatydylocholina) i ujemnie naładowane fosfolipidy wewnętrznej warstwy błony, pochodzące z apoptotycznych lub uszkodzonych komórek (BIDLA i współaut. 2009). Główną funkcją oksydazy fenolowej jest udział w melanogenezie. Enzym ten powoduje przekształcanie fenoli do chinonów, które następnie polimeryzują do melaniny. Wyróżnić można dwie klasy związków wykorzystywanych przez PO jako substraty: (1) monofenole, takie jak tyrozyna czy tyramina, i (2) związki katecholowe: 1,2-dihydroksybenzen (katechol), 4-metyloka-techol, DOPA, dopamina, N-acetyldopamina (NADA), N-alanyldopamina (NBAD), N-acetylnorepinefryna (NBANE), kwas 3,4-dihydroksyfenylooctowy (DOPAC), norepinefryna, kwas 3,4-dihydroksymigdałowy oraz kwas 3,4-dihydroksybenzoesowy (VAVRICKA i współaut. 2014, SUGUMARAN i BAREK 2016). Melanina u owadów pełni funkcję pigmentacyjną i jest zaangażowana w istotne procesy fizjologiczne, takie jak: gojenie ran, tworzenie skrzepu, zwapnienie oskórka (sklerotyzacja), utrzymanie homeostazy jelitowej i reakcje obronne (KHAYROVA i współaut. 2021, POPADIĆ i TSITLIKIDOU 2021). Melanina bierze udział w procesie krzepnięcia hemolimfy i podczas gojenia ran. Hemocyty gromadzące się w miejscu zranienia uwalniają proPO, warunkując tym samym proces melanizacji. Depozycja melaniny w obrębie zranienia zapobiega utracie hemolimfy i chroni

przed wnikaniem patogenów do wnętrza organizmu owada (ELEFTHERIANOS i REVENIS 2011). Układ PO i powstająca w wyniku jego aktywności melanina, zaangażowane są też w procesy nodulacji i enkapsulacji. W odpowiedzi na wniknięcie do ciała owada komórek bakteryjnych lub zarodników grzyba dochodzi do gromadzenia się wokół nich hemocytów tworzących wraz z agregatami drobnoustrojów strukturę określaną jako nodula. Końcowym etapem procesu nodulacji może być odkładanie melaniny na powierzchni noduli, która powoduje unieszkodliwienie patogenu. Podobnie jak w przypadku nodulacji, melanina odkładana w kapsułach hamuje rozwój patogenów (ELEFTHERIANOS i REVENIS 2011, SATYAVATHI i współaut. 2014, CLARK 2020).

Eliminację patogenu ułatwiają również chinony i wolne rodniki, powstające w wyniku aktywności oksydazy fenolowej. Związki te wykazują wysoką toksyczność, nie tylko wobec patogenu, ale również wobec własnych komórek gospodarza (GILLESPIE i współaut. 1997, NAPPI i współaut. 2000). Dlatego, dla zachowania homeostazy organizmu, wymagana jest ścisła kontrola i regulacja tego mechanizmu. Uczestniczą w niej m. in. inhibitory proteaz serynowych – serpiny (MEEKINS i współaut. 2017, SHAKEEL i współaut. 2019).

MECHANIZM INFЕКCJI OWADÓW PRZEZ GRZYBY ENTOMOPATOGENNE

Mechanizm infekcji owadów przez grzyby entomopatogenne jest procesem kilkuetapowym. Aby doszło do infekcji niezbędny jest fizyczny kontakt zarodnika z owadem. Najczęściej zarodniki osiadają na kutikuli owadów, szczególnie w miejscach jej zranienia, rzadziej w otworze gębowym lub odbytowym albo w przetchlinkach. Do adhezji dochodzi na fragmencie kutikuli zawierającym cząsteczki hydrofilowe. Konidia zawierają otoczkę hydrofobową, której głównymi składnikami białkowymi są hydrofobiny. U entomopatogenów występuje kilka rodzajów tych białek, z których najważniejsze to Hyd1, Hyd2 i Hyd3 (ang. hydrophobin 1, 2 i 3). Umożliwiają one rozpoznanie hydrofilowych fragmentów kutikuli; szczególną rolę pełnią tu Hyd1 i Hyd2 (ZHANG i współaut. 2011). Białka te są również zaangażowane w sporulację, patogenезę oraz wzrost i rozwój grzyba (YING i FENG 2004, ZHANG i współaut. 2011, JIANG i współaut. 2020). Dane literaturowe donoszą, że zablokowanie genów odpowiedzialnych za ekspresję HYD1 i HYD2 wpływa negatywnie na pigmentację, produkcję konidów i ich hydrofobowość, obniżając żywotność grzybów entomopatogennych (KERSHAW i współaut. 1998; ALAVO i ACCODJI 2004; SEVIM i współaut. 2010, 2012; KIRKLAND i KEYHANI

2011; ZHANG i współaut. 2011; SHAHRIARI i współaut. 2021). Hydrofobina 3, występująca u *M. acridum* (MacHYD3), wykazuje również właściwości immunomodulujące odpowiedź gospodarza, ale tylko u tych owadów, które są wrażliwe na infekcje (*Locusta migratoria manilensis*). Z kolei topikalne podanie MacHYD3 osobnikom opornym na zakażenie entomopatogenem nie powoduje aktywacji układu odpornościowego (JIANG i współaut. 2020). Zwiększenie właściwości hydrofobowych zarodnika jest możliwe dzięki obecności w ścianie komórkowej białka CWP10 (ang. cell wall protein 10). Uczestniczy ono również w procesie adhezji zarodników do powierzchni kutikuli (LI i współaut. 2010).

W procesie przyłączenia zarodnika do powierzchni kutikuli ważną funkcję pełni również adhezyny. U *M. anisopliae* wykazano obecność dwóch białek tego typu. Są to Mad1 i Mad2 (ang. *Metarhizium* adhesin-like protein 1 i 2). Ich budowa umożliwia przyłączanie zarodnika do powierzchni kutikuli. Zawierają one w swojej strukturze pośredniczący w adhezji region bogaty w prolinę i treoninę. Prawdopodobnie w części C-terminalnej białko to jest zakotwiczone przez glikozylofosfatydiloinozitol. Taka budowa umożliwia lokalizację protein na powierzchni okrywy ciała owadów. Oprócz kluczowej roli w adhezji, Mad1 pełni ważną funkcję w procesie germinacji zarodników i produkcji blastospor (ORTIZ-URQUIZA i KEYHANI 2013, ZIBAE i RAMZI 2018). Druga z adhezyn, białko Mad2, jest istotną proteiną biorącą udział w infekcji roślin przez ten grzyb (WANG i ST LEGER 2007a, BARELLI i współaut. 2011).

Zarodniki są zabezpieczone przed szkodliwymi czynnikami takimi jak: promieniowanie UV, zmieniająca się temperatura i wilgotność, antagonistyczne drobnoustroje i odpowiedź immunologiczna owada. Przed szkodliwym działaniem stresu biotycznego i abiotycznego chronią białka szoku cieplnego (ang. heat shock proteins; HSP25, HSP30, HSP70 i HSP90), Pmr1 (ang. polysomal ribonuclease 1) i kinazy MAPK (ang. mitogen-activated protein kinases), w tym Hog1 (ang. high osmolarity glycerol 1) (JIN i współaut. 2012, WANG i współaut. 2013, LIAO i współaut. 2014).

Na powierzchni kutikuli zarodnik tworzy apressorium (etap ten nie występuje podczas infekcji wywoływanej przez niektóre grzyby), które przekształca się w strzępkę infekcyjną. Rozwój apressorium i inwazja są zależne od składu kutikuli owada. Najważniejszymi składnikami wykorzystywanymi przez rozwijające się apressorium są lipidy, alkohole polihydroksylowe, trehaloza i glikogen. Białkiem zaangażowanym w metabolizm lipidów jest perilipina (ang. perilipin-like protein, MPL1) (WANG i ST

LEGER 2007a). MPL1 ułatwia transport i magazynowanie lipidów w konidiach, utrzymując homeostazę lipidową grzyba. Usunięcie genu dla MPL1 prowadzi do zmniejszenia turgoru w apressoriach, co osłabia adhezję grzyba do hydrofobowej powierzchni (HARITH-FADZILAH i współaut. 2021). U *M. acridum* formowanie apressorium związane jest z ekspresją genów *magas1*, *maSte12* i *maAreB* (WEI i współaut. 2017, LI i współaut. 2021, SU i współaut. 2021). Natomiast u *M. robertsii* ważną rolę w penetracji kutikuli owada pełni receptor K sprzężony z białkiem G (GPRK), zlokalizowany w endosomach. Niedobór tego białka powoduje mniejszą wirulencję grzyba związaną z częściowym zahamowaniem tworzenia apressorium (YU i współaut. 2021). Produkcja tego białka przez grzyb odbywa się poprzez ekspresję genów *mrGpr1-mrGpr10* (SHANG i współaut. 2021).

Lipidy są metabolizowane do glicerolu. Związek ten zwiększa ciśnienie hydrostatyczne i pozwala na przerwanie ciągłości kutikuli przez strzępki. Za biosyntezę glicerolu odpowiada białko mrGAT (ang. glycerol acyltransferas) (ZHAO i współaut. 2006, WANG i ST LEGER 2007b, GAO i ZHU 2008). Acylotransferaza glicerylo-3-fosforanowa (GPAT) jest pierwszym enzymem, który katalizuje acylację 3-fosforanu gliceryny do kwasu lizofosfatydowego. Związek ten jest prekursorem biosyntezy kwasu fosfatydowego, diacyloglicerolów (DAG) i triacyloglicerolu (TAG) (TAKEUCHI i REUE 2009, WENDEL i współaut. 2009, KACZMAREK i BOGUŚ 2021a). Ortologiem GPAT, występującym u entomopatogenicznego grzyba *M. robertsii*, jest mrGAT (GAO i współaut. 2013). W porównaniu z typem dzikim, mutanty ΔmrGAT wykazywały zmniejszone zdolności do wytwarzania konidiów i syntezy TAG, glicerolu i całkowitych lipidów. Poza tym, mrGAT jest bezpośrednio związany z tworzeniem kropeł lipidów (ang. lipid droplet LD) w komórkach grzybowych. Wyniki testów biologicznych na owadach wykazały, że mrGAT jest białkiem kluczowym do uzyskania pełnej zjadliwości poprzez wspomaganie penetracji kutikuli (GAO i współaut. 2013).

W skład ściany komórkowej zarodnika wchodzi również enzymy rozkładające substancje wykazujące właściwości przeciwgrzybicze, występujące na powierzchni kutikuli. Zaliczamy do nich m.in.: proteazy cysteinowe i subtylizynowe oraz chitynazy, których aktywność powoduje uwolnienie substancji stymulujących proces kiełkowania zarodnika (KANG i współaut. 1999, SANTI i współaut. 2010, SCHRANK i VAINSTEIN 2010, ORTIZ-URQUIZA i KEYHANI 2013). Oprócz nich obecne są również enzymy, powodujące degradację kwasów tłuszczowych czy alkanów wykazujących działanie antygrzybicze. U grzybów z rodzaju *Metarhi-*

zium i *Beauveria* są to białka MrCYP52 (ang. *M. robertsii* cytochrome P450 monooxygenase family 52) i Cyp52XI (ang. cytochrome P450 monooxygenase family 52) (LIN i współaut. 2011, ZHANG i współaut. 2012).

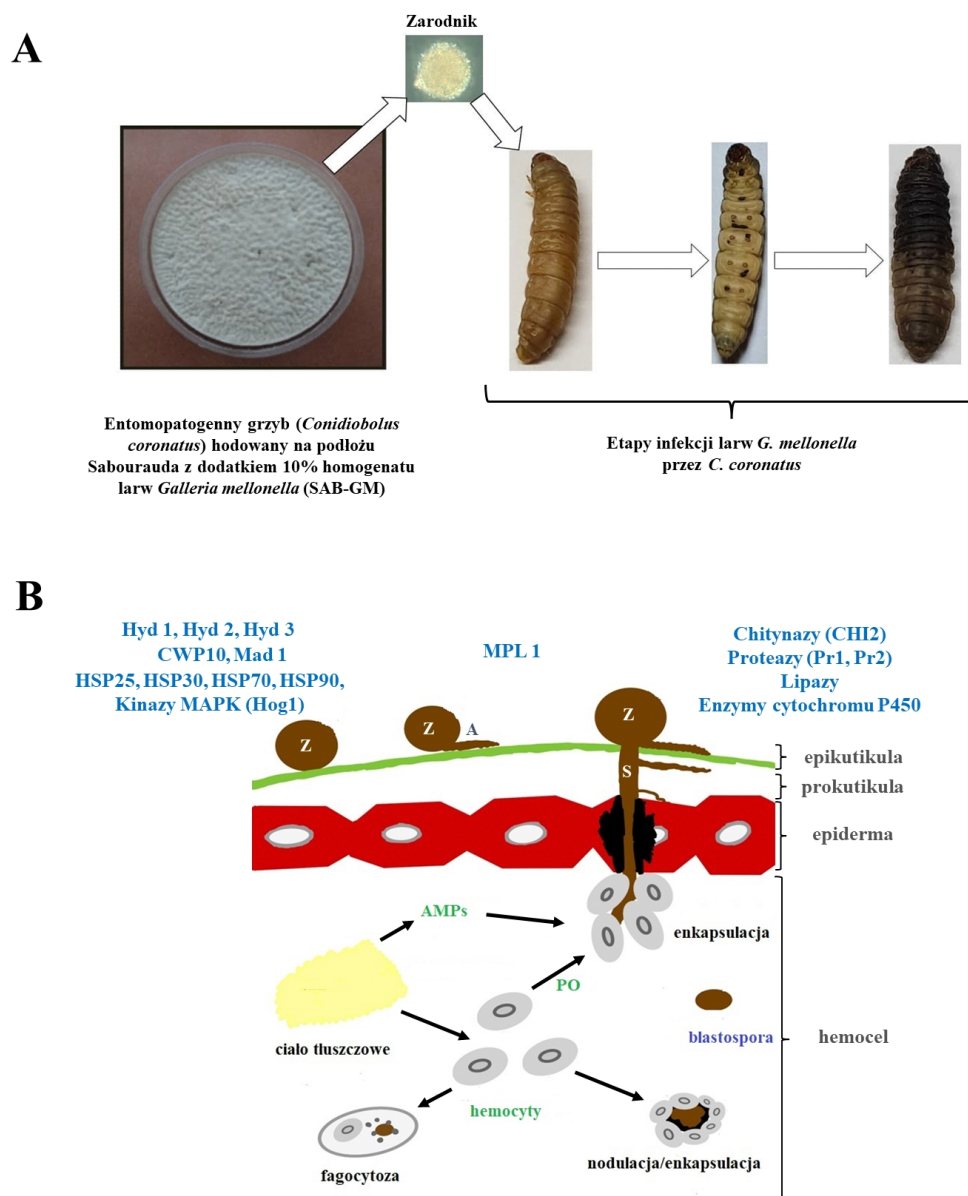
Enzymy proteolityczne, lipolityczne i chitynolityczne wydziela również nowo wytworzona strzępka. Najbardziej efektywnymi w procesie degradacji warstwy białkowo-chitynowej są endochitynaza CHI2 (ang. endochitinase 2) i proteaza Pr1 (ang. pathogenesis-related protein 1) (SMALL i BIDOCHKA 2005, BOLDO i współaut. 2009). Nadekspresja CHI2 u *M. anisopliae* skutkuje wyższą skutecznością w zabijaniu *Dysdercus peruvianus* oraz skraca czas niezbędny do zabicia owadów. Co ważniejsze, zmniejszona zjadliwość tego grzyba była obserwowana u osobników z wyciszonym genem odpowiedzialnym za kodowanie tego enzymu (BOLDO i współaut. 2009). Najczęściej badanymi enzymami proteolitycznymi są: subtilizyno-podobna proteaza serynowa Pr1 i trypsyno-podobna proteaza Pr2, a ich aktywność została opisana u *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Lecanicillium lecanni*, *N. rileyi* i *Metarhizium flavoviride* (BIDOCHKA i MELZER 2000). Proteazy te są wydzielane podczas pierwszego etapu penetracji kutikuli i podlegają mechanizmowi transdukcji sygnału z aktywacją kinazy białkowej A (PKA) za pośrednictwem cyklicznego adenozyno-3',5'-monofosforanu (ang. cyclic adenosine monophosphate, cAMP) (FANG i współaut. 2009). Wykazano, że proteaza Pr1 jest kluczowym elementem zewnątrzkomórkowym biorącym udział w degradacji kutikuli (SUN i LIU 2006). Poza tym, proteaza Pr1 jest wskaźnikiem zjadliwości grzybów entomopatogennych (CASTELLANOS-MOGUEL i współaut. 2007, SÁNCHEZ-PÉREZ i współaut. 2014).

W przypadku zainfekowania *B. bassiana* degradacja węglowodórów obecnych w kutikuli owada następuje w wyniku działania grupy enzymów cytochromu P450. Enzymy te przekształcają alkany przez końcowe utlenianie do alkoholi, dalej utlenianych przez dehydrogenazy alkoholowe i aldehydowe, których produkty mogą wejść na szlaki -oksydacji. *Beauveria bassiana* zawiera co najmniej 83 geny kodujące cytochrom P450 (*cyp*) (PEDRINI i współaut. 2010, 2013). Rozkład kutikuli prowadzi do przerwania ciągłości ciała owada i umożliwia kiełkowanie strzępek infekcyjnych do wnętrza ciała. Rozwijająca się grzybnia wewnątrz ciała stawonoga penetruje narządy wewnętrzne i jamę ciała.

Grzyb rozrastając się w ciele owada wytwarza szereg toksycznych metabolitów o różnej budowie chemicznej. *Metarhizium* spp. produkują głównie destruksyne (cykliczne depsyptetydy), a *Beauveria* spp. może syntetyzować beauwerycynę i bassianolid (cyklooligomeryczne

peptydy nierybosomalne), różne beauwerolidy (cykliczne peptydy), oosporeinę (dibenzochinon), bassiatynę (diketomorfolina) i tenellinę (2-pirydon). Rola tych metabolitów nie jest jeszcze dokładnie poznana. Wiadomo jednak, że beauwerolidy biorą udział w zabijaniu żywiciela, natomiast oosporeina sprzyja infekcji poprzez zmniejszenie liczby hemocytów u owada. Związki te są syntetyzowane w wyniku ekspresji klastrow genów zawierających syntetazy peptydów nierybosomalnych NRPSs (ang. nonribosomal peptide-synthetases), syntazy poliketydowe PKSs (ang. polyketide synthases) oraz hybrydy NPRS-PKS (ZHANG i współaut. 2020, PEDRINI 2022). Również entomopatogeny grzyb *C. coronatus* produkuje szereg toksycznych metabolitów. Białko coronatin-1 (36 kDa) wykazuje działanie chitynolityczne i elastynolityczne, natomiast coronatin-2 (14,5 kDa) nie ma aktywności enzymatycznej. Jednak oba białka powodują dezintegrację hemocytów i zaburzają tworzenie sieci między plazmatocytami (WIELOCH i współaut. 2011, BOGUŚ i współaut. 2017). Dwa inne metabolity tego grzyba, alkaloidy -karbolinowe, harman i norharman, u *G. mellonella* opóźniają przepoczwarczenie i wylinkę imaginalną oraz hamują całkowitą aktywność monoaminooksydazy (MAO). Ponadto zwiększają stężenie serotoniny i obniżają poziom monoaminooksydazy A oraz stymulują aktywność fagocytarną hemocytów u tych owadów (WROŃSKA i współaut. 2018a, WROŃSKA i BOGUŚ 2019). Z kolei dodekanol wywiera negatywny efekt na hemocyty *G. mellonella* i *C. vicina* powodując ich dezintegrację (KAZEK i współaut. 2021). Inny metabolit tego grzyba, kwas oktanowy, uszkadzając hemocyty, wywołuje w tych komórkach późną apoptozę i/lub nekrozę, aktywuje kaspazy oraz wpływa na podwyższenie poziomu 8-hydroksyguanozyny, markera stresu oksydacyjnego związanego z uszkodzeniem DNA (KACZMAREK i współaut. 2022).

Grzyby entomopatogenne wykształciły także mechanizmy pozwalające wnikać do ciała owada nie tylko przez kutikulę, ale także przez otwór gębowy lub przetchlinki. Analizy histologiczne przewodu pokarmowego *Hylobius pales* zakażonego *per os* conidiami *M. anisopliae* nie wykazały, kiełkowania zarodników w jelicie owada. Może być to związane z ochronnym działaniem mikroflory jelitowej. Okazało się jednak, że zarodniki *B. bassiana* mogą kiełkować w jelitach *B. mori*, wytwarzać metabolity i uszkadzać komórki (MANNINO i współaut. 2019). BUTT i współaut. (2013) stwierdzili, że chociaż konidia tego grzyba, które dostały się do ciała larw *A. aegypti* przez otwór gębowy, nie kiełkują i są wydalane w postaci grudek kałowych, to śmiertelność owadów wydaje się być powiązana z autolizą wywołaną przez kaspazy



Ryc. 1. Mechanizm infekcji owadów przez grzyby entomopatogenne.

(A) Infekowanie larw *Galleria mellonella* przez *Conidiobolus coronatus*; (B) Schemat infekowania owadów przez grzyby entomopatogenne.

Z – zarodnik; A – appresorium¹, S – strzępka inwazyjna, blastospory² – powstałe z odpączkowania strzępki.

Białka zapewniające hydrofobową strukturę zarodnika: hydrofobiny (np. Hyd 1, Hyd 2, Hyd 3), białko CWP10 (ang. cell wall protein 10).

Białka uczestniczące w procesie adhezji zarodnika do powierzchni kutikuli: CWP10, adhezyny: Mad 1 (ang. *Metarhizium* adhesin-like protein 1).

Białka chroniące przed stresem biotycznym and abiotycznym: białka szoku cieplnego (ang. heat shock proteins; HSP25, HSP30, HSP70, HSP90), PMR1 (ang. polysomal ribonuclease 1), kinazy MAPK, (ang. mitogen-activated protein kinases), w tym Hog1, ang. high osmolarity glycerol 1.

Związki zaangażowane w rozwój appresorium¹: perilipina (ang. perilipin-like protein, MPL1).

Enzymy zaangażowane w rozkład kutikuli owada: chitynazy [np. endochitynaza CHI2 (ang. endochitinase 2)], proteazy (np. proteaza Pr1, proteaza Pr2 (ang. pathogenesis-related protein), lipazy, enzymy cytochromu P450.

Elementy humoralnej odpowiedzi immunologicznej owadów: peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. insect antimicrobial peptides, AMPs), oksydaza fenolowa (ang. phenol oxidase, PO).

Elementy komórkowej odpowiedzi immunologicznej: hemocyty, fagocytoza, enkapulacja/nodulacja.

^{1,2} Struktury te nie występuje podczas rozwoju wszystkich grzybów entomopatogennych, np. rozwój zarodników *C. coronatus* na kutikuli owada nie wymaga tego etapu.

(enzymy o aktywności proteazowej zaangażowane w procesy apoptotyczne). Szlak jest regulowany przez HSP70 i hamowany w zakażonych larwach przez inhibitory proteaz. Analizy genetyczne wykazały, że *B. bassiana* ma co najmniej 13 genów kodujących termolabilne endotoksyny podobne do tych, które poznano u patogennych szczepów bakterii (XIAO i współaut. 2012).

Rosnąca grzybnia stosuje szereg strategii mających na celu zminimalizowanie skutków działania układu immunologicznego owada. Jedną z nich jest obniżenie poziomu proteaz produkowanych przez strzępkę. Przykładem jest proteaza Pr1, jedno z kluczowych białek uczestniczących w procesie adhezji. Pr1 aktywuje układ odpornościowy owada, stymulując oenocyty do syntezy oksydazy fenolowej. Enzym ten inicjuje proces melanizacji. Nadsekrecja tego białka powodowałaby gwałtowniejszą odpowiedź układu immunologicznego grzyba, dlatego podczas przerywania ciągłości ciała produkcja tej proteazy zostaje zahamowana (ST LEGER i współaut. 1996). Inną taktyką stosowaną przez rosnącą grzybnę jest występowanie zjawiska mimikry. Dane literaturowe sugerują, że u niektórych grzybów powierzchnia kielkującej grzybni może „udawać” cząsteczek odpornościowe owada. Zjawisko to obserwuje się u *N. rileyi*. Strzępki tego organizmu mogą swobodnie krążyć w hemolimfie, „niezauważone” przez hemocyty (PENDLAND i BOUCLAS 1998). Grzyb *M. anisopliae* produkuje białko podobne do kolagenu, pozwalające na uniknięcie odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Jego główną funkcją jest maskowanie -glukanu w ścianie komórkowej ciała strzępkowego. Prowadzi to do osłabienia odpowiedzi immunologicznej i zwiększenia wirulencji grzyba (WANG i ST LEGER 2006). Niektóre metabolity grzybów, takie jak cyklosporyna i myriocina, mogą modulować odpowiedź immunologiczną i hamować układ odpornościowy owada. Substancje te są również wykorzystywane jako immunosupresory (PAL i współaut. 2007).

W wyniku działania metabolitów wytwarzanych przez strzępkę, widoczne są zmiany behawioralne owadów: stają się one powolne, przestają żerować i przyjmują nienaturalne pozycje ciała. Osłabienie, zatrucie enzymami i toksynami prowadzi w rezultacie do śmierci gospodarza. Grzybnia po przerośnięciu ciała, może wytwarzać zarodniki. Formy te są odporne na działanie szkodliwych czynników zewnętrznych i pozwalają na przeżycie w niesprzyjających warunkach. Przede wszystkim, zarodniki umożliwiają infekcję kolejnych owadów.

Schemat podsumowujący mechanizm infekcji owadów przez grzyby entomopatogenne został przedstawiony na Ryc. 1.

Streszczenie

Najczęściej stosowaną obecnie metodą eliminacji owadów szkodliwych ze środowiska są pestycydy. Ich użycie wiąże się z wysoką skutecznością, nie jest jednak pozbawione wad. Wytwarzanie odporności wśród szkodników, niska wybiórczość działania, możliwość kumulacji w wodzie i glebie, a także negatywny wpływ na zdrowie ludzi i zwierząt to tylko niektóre zarzuty wobec stosowania pestycydów. Dlatego jako alternatywę proponuje się wykorzystanie organizmów entomopatogennych. W przeciwieństwie do bakterii i wirusów, entomopatogenne grzyby mają zdolność do trawienia kutikuli owadów. Sam proces infekcji jest wieloetapowy. Kluczowym momentem jest adhezja zarodnika do powierzchni kutikuli. Kutikula jest pierwszą mechaniczną barierą chroniącą przed infekcją grzybiczą. Drugim ważnym czynnikiem wytworzonym przez owady do walki z patogenami jest układ odpornościowy z mechanizmami obrony komórkowej i humoralnej. Dokładne poznanie procesu infekcji i mechanizmów obronnych owadów przyczyni się do komercyjnego wykorzystania entomopatogenów w zwalczaniu owadów szkodliwych.

LITERATURA

- AKBAR W., LORD J. C., NECHOLS J. R., HOWARD R. W., 2004. *Diatomaceous earth increases the efficacy of Beauveria bassiana against Tribolium castaneum larvae and increases conidia attachment*. J. Econ. Entomol. 97, 273-280.
- ALAVO T. B. C., ACCODJI M., 2004. *The entomopathogenic fungus Verticillium lecanii (Deuteromycetes, Moniliaceae). The proteins hydrophobins and the biological control of aphids (Homoptera, Aphididae)*. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 37, 201-204.
- ALTINCICEK B., STÖTZEL S., WYGRECKA M., PREISSNER K. T., VILCINSKAS A., 2008. *Host-derived extracellular nucleic acids enhance innate immune responses, induce coagulation, and prolong survival upon infection in insects*. J. Immunol. US 181, 2705-2712.
- ANDERSEN S. O., 1979. *Biochemistry of insect cuticle*. Annu. Rev. Entomol. Annual Rev. 24, 29-59.
- ASHIDA M., OCHIAI M., NIKI T., 1988. *Immunolocalization of prophenoloxidase among hemocytes of the silkworm, Bombyx mori*. Tissue Cell 20, 599-610.
- AVULOVA S., ROSENGAUS R. B., 2011. *Losing the battle against fungal infection: Suppression of termite immune defenses during mycosis*. J. Insect Physiol. 57, 966-971.
- BALABANIDOU V., GRIGORAKI L., VONTAS J., 2018. *Insect cuticle: a critical determinant of insecticide resistance*. Curr. Opin. Insect Sci. 27, 68-74.
- BARELLI L., PADILLA-GUERRERO I. E., BIDOCHKA M. J., 2011. *Differential expression of insect and plant specific adhesin genes, Mad1 and Mad2, in Metarhizium robertsii*. Fungal Biol. 115, 1174-1185.
- BAVA R., CASTAGNA F., PIRAS C., MUSOLINO V., LUPA C., PALMA E., BRITTI D., MUSELLA V., 2022. *Entomopathogenic fungi for pests and predators control in beekeeping*. Vet Sci. 9, 95.
- BELVIN M. P., ANDERSON K. V., 1996. *A conserved signaling pathway: The Drosophila toll-dorsal pathway*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 12, 393-416.
- BERGIN D., MURPHY L., KEENAN J., CLYNES M., KAVANAGH K., 2006. *Pre-exposure to yeast protects larvae of Galleria mellonella from a subsequent*

- lethal infection by *Candida albicans* and is mediated by the increased expression of antimicrobial peptides. *Microbes Infect.* 8, 2105-2112.
- BIDLA G., HAULING T., DUSHAY M. S., THEOPOLD U., 2009. Activation of insect phenoloxidase after injury: Endogenous versus foreign elicitors. *J. Innate Immun.* 1, 301-308.
- BIDOCHKA M. J., MELZER M. J., 2000. Genetic polymorphisms in three subtilisin-like protease isoforms (Pr1A, Pr1B, and Pr1C) from *Metarhizium strains*. *Can. J. Microbiol.* 46, 1138-1144.
- BLAIR A., RITZ B., WESSELING C., FREEMAN L. B., 2015. Pesticides and human health. *Occup. Environ. Med.* 72, 81-82.
- BOGUŚ M. I., SCHELLER K., 2002. Extraction of an insecticidal protein fraction from the parasitic fungus *Conidiobolus coronatus* (Entomophthorales). *Acta Parasitol.* 47, 66-72.
- BOGUŚ M. I., KEDRA E., BANIA J., SZCZEPANIK M., CZYGIER M., JABIOŃSKI P., PASZTALENIEC A., SAMBORSKI J., MAZGAJSKA J., POLANOWSKI A., 2007. Different defense strategies of *Dendrolimus pini*, *Galleria mellonella*, and *Calliphora vicina* against fungal infection. *J. Insect Physiol.* 53, 909-922.
- BOGUŚ M. I., CZYGIER M., GOŁEBIOWSKI M., KEDRA E., KUCIŃSKA J., MAZGAJSKA J., SAMBORSKI J., WIELOCH W., WIÓKA E., 2010. Effects of insect cuticular fatty acids on *in vitro* growth and pathogenicity of the entomopathogenic fungus *Conidiobolus coronatus*. *Exp. Parasitol.* 125, 400-408.
- BOGUŚ M. I., WIELOCH W., LIGŹA-ŻUBER M., 2017. Coronatin-2 from the entomopathogenic fungus *Conidiobolus coronatus* kills *Galleria mellonella* larvae and incapacitates hemocytes. *Bull. Entomol. Res.* 107, 66-76.
- BOLDO J. T., JUNGES A., DO AMARAL K. B., STAATS C. C., VAINSTEIN M. H., SCHRANK A., 2009. Endochitinase *CHI2* of the biocontrol fungus *Metarhizium anisopliae* affects its virulence toward the cotton stainer bug *Dysdercus peruvianus*. *Curr. Genet.* 55, 551-560.
- BOUCIAS D. G., PENDLAND J. C., 1984. Nutritional requirements for conidial germination of several host range pathotypes of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *J. Invertebr. Pathol.* 43, 288-292.
- BOUCIAS D. G., PENDLAND J. C., LATGE J. P., 1988. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 1795-1805.
- BREHÉLIN M., ZACHARY D., 1986. *Insect haemocytes: a new classification to rule out the controversy.* [W:] *Immunity in Invertebrates*. BREHÉLIN M. (red.). Springer Verlag, 36-48.
- BRENNAN J. J., GILMORE T. D., 2018. Evolutionary origins of toll-like receptor signaling. *Mol. Biol. Evol.* 35, 1576-1587.
- BRINKMANN V., 2018. Neutrophil extracellular traps in the second decade. *J. Innate Immun.* 10, 414-421.
- BRINKMANN V., REICHARD U., GOOSMANN C., FAULER B., UHLEMANN Y., WEISS D. S., WEINRAUCH Y., ZYCHLINSKY A., 2004. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 303, 1532-1535.
- BRITTAİN C., POTTS S. G., 2011. The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic Appl. Ecol.* 12, 321-331.
- BROWNE N., HEELAN M., KAVANAGH K., 2013. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence* 4, 597-603.
- BROWNE N., HACKENBERG F., STRECIWILK W., TACKE M., KAVANAGH K., 2014. Assessment of *in vivo* antimicrobial activity of the carbene silver(I) acetate derivative SBC3 using *Galleria mellonella* larvae. *BioMetals* 27, 745-752.
- BUGTI G. A., NA C., BIN W., LIN H. F., 2018. Control of plant sap-sucking insects using entomopathogenic fungi *Isaria fumosorosea* strain (Ifu13a). *Plant Prot. Sci.* 54, 258-264.
- BULET P., HETRU C., DIMARCO J. L., HOFFMANN D., 1999. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Dev. Comp. Immunol.* 23, 329-344.
- BUTT T. M., GREENFIELD B. P. J., GREIG C., MAFFEIS T. G. G., TAYLOR J. W. D., PIASECKA J., DUDLEY E., ABDULLA A., DUBOVSKIY I. M., GARRIDO-JURADO I., QUESADA-MORAGA E., PENNY M. W., EASTWOOD D. C., 2013. *Metarhizium anisopliae* pathogenesis of mosquito larvae: A verdict of accidental death. *PLoS One.* 8, e81686.
- CARVALHO L., JACINTO A., MATOVA N., 2014. The Toll/NF- κ B signaling pathway is required for epidermal wound repair in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 5373-5382.
- CASTELLANOS-MOGUEL J., GONZÁLEZ-BARAJAS M., MIER T., REYES-MONTES M. D. R., ARANDA E., TORIELLO C., 2007. Virulence testing and extracellular subtilisin-like (Pr1) and trypsin-like (Pr2) activity during propagule production of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Rev. Iberoam. Micol.* 24, 62-68.
- CHANG Y., XIA X., SUI L., KANG Q., LU Y., LI L., LIU W., LI Q., ZHANG Z., 2021. Endophytic colonization of entomopathogenic fungi increases plant disease resistance by changing the endophytic bacterial community. *J. Basic Microbiol.* 61, 1098-1112.
- CHEN R. Y., KEDDIE B. A., 2021. *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) hemocytes release extracellular traps that confer protection against bacterial infection in the hemocoel. *J. Insect Sci.* 21, 17.
- CHOWDHURY M., ZHANG J., XU X. X., HE Z., LU Y., LIU X. S., WANG Y. F., YU X. Q., 2019. An *in vitro* study of NF- κ B factors cooperatively in regulation of *Drosophila melanogaster* antimicrobial peptide genes. *Dev. Comp. Immunol.* 95, 50-58.
- CLARK K. D., 2020. Insect Hemolymph Immune Complexes. *Subcell. Biochem.* 94, 123-161.
- COOPER D., ELEFThERIANOS I., 2017. Memory and specificity in the insect immune system: Current perspectives and future challenges. *Front. Immunol. Front.* 8, 539.
- COTES B., THÖMING G., AMAYA-GÓMEZ C. V., NOVÁK O., NANSSEN C., 2020. Root-associated entomopathogenic fungi manipulate host plants to attract herbivorous insects. *Sci. Rep.* 10, 22424.
- DARA S. K., 2019. Non-Entomopathogenic Roles of Entomopathogenic Fungi in Promoting Plant Health and Growth. *Insects* 10, 277.
- DOWN R. E., CUTHBERTSON A. G. S., MATHERS J. J., WALTERS K. F. A., 2009. Dissemination of the entomopathogenic fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by the predatory bug, *Orius laevigatus*, to provide concurrent control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*. *Biol. Control.* 50, 172-178.

- ELEFThERIANOS I., REVENIS C., 2011. *Role and importance of phenoloxidase in insect hemostasis*. J. Innate Immun. 3, 28-33.
- FADAYIVATA S., MORAVVEJ G., KARIMI J., 2014. *Pathogenicity of the fungus lecanicillium longisporum against sipheria maydis and metopolophium dirhodum in laboratory conditions*. J. Plant Prot. Res. 54, 67-73.
- FALLON J. P., TROY N., KAVANAGH K., 2011. *Pre-exposure of Galleria mellonella larvae to different doses of Aspergillus fumigatus conidia causes differential activation of cellular and humoral immune responses*. Virulence 2, 413-421.
- FANG W., PAVA-RIPOLL M., WANG S., ST LEGER R., 2009. *Protein kinase A regulates production of virulence determinants by the entomopathogenic fungus, Metarhizium anisopliae*. Fungal Genet. Biol. 46, 277-285.
- FRONZA E., SPECHT A., HEINZEN H., DE BARROS N. M., 2017. *Metarhizium (Nomuraea) rileyi as biological control agent*. Biocontrol Sci. Technol. 27, 1243-1264.
- GAO B., ZHU S. Y., 2008. *Differential potency of drosomycin to Neurospora crassa and its mutant: implications for evolutionary relationship between defensins from insects and plants*. Insect Mol. Biol. 17, 405-411.
- GAO Q., SHANG Y., HUANG W., WANG C., 2013. *Glycerol-3-phosphate acyltransferase contributes to triacylglycerol biosynthesis, lipid droplet formation, and host invasion in Metarhizium robertsii*. Appl. Environ. Microbiol. 79, 7646-7653.
- GENG T., LU F., WU H., LOU D., TU N., ZHU F., WANG S., 2021. *Target antifungal peptides of immune signalling pathways in silkworm, Bombyx mori, against Beauveria bassiana*. Insect Mol. Biol. 30, 102-112.
- GILLESPIE J. P., KANOST M. R., TRENCZEK T., 1997. *Biological mediators of insect immunity*. Annu. Rev. Entomol. 42, 611-643.
- GOETTEL M. S., KOIKE M., KIM J. J., AIUCHI D., SHINYA R., BRODEUR J., 2008. *Potential of Lecanicillium spp. for management of insects, nematodes and plant diseases*. J. Invertebr. Pathol. 98, 256-261.
- GOŁEBIOWSKI M., BOGUŚ M. I., PASZKIEWICZ M., STEPNOWSKI P., 2011. *Cuticular lipids of insects as potential biofungicides: Methods of lipid composition analysis*. Anal. Bioanal. Chem. 399, 3177-3191.
- GOŁEBIOWSKI M., CERKOWNIAC M., BOGUŚ M. I., WŁÓKA E., DAWGUL M., KAMYSZ W., STEPNOWSKI P., 2013a. *Free fatty acids in the cuticular and internal lipids of Calliphora vomitoria and their antimicrobial activity*. J. Insect Physiol. 59, 416-429.
- GOŁEBIOWSKI M., CERKOWNIAC M., DAWGUL M., KAMYSZ W., BOGUŚ M. I., STEPNOWSKI P., 2013b. *The antifungal activity of the cuticular and internal fatty acid methyl esters and alcohols in Calliphora vomitoria*. Parasitology 140, 972-985.
- GOŁEBIOWSKI M., CERKOWNIAC M., URBANEK A., DAWGUL M., KAMYSZ W., BOGUŚ M. I., SOSNOWSKA D., STEPNOWSKI P., 2014a. *Antimicrobial activity of untypical lipid compounds in the cuticular and internal lipids of four fly species*. J. Appl. Microbiol. 116, 269-287.
- GOŁEBIOWSKI M., URBANEK A., OLESZCZAK A., DAWGUL M., KAMYSZ W., BOGUŚ M. I., STEPNOWSKI P., 2014b. *The antifungal activity of fatty acids of all stages of Sarcophaga carnaria L. (Diptera: Sarcophagidae)*. Microbiol. Res. 169, 279-286.
- GOŁEBIOWSKI M., CERKOWNIAC M., URBANEK A., DAWGUL M., KAMYSZ W., BOGUŚ M. I., STEPNOWSKI P., 2015. *Identification and antifungal activity of novel organic compounds found in cuticular and internal lipids of medically important flies*. Microbiol. Res. 170, 213-222.
- GONZÁLEZ-AMARO R., SÁNCHEZ-MADRID F., 1999. *Cell adhesion molecules: Selectins and integrins*. Crit. Rev. Immunol. 19, 389-429.
- GONZÁLEZ-PÉREZ E., ORTEGA-AMARO M. A., BAUTISTA E., DELGADO-SÁNCHEZ P., JIMÉNEZ-BREMONT J. F., 2022. *The entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae enhances Arabidopsis, tomato, and maize plant growth*. Plant Physiol. Biochem. 176, 34-43.
- GORMAN M. J., AN C., KANOST M. R., 2007. *Characterization of tyrosine hydroxylase from manduca sexta*. Insect Biochem. Mol. Biol. 37, 1327-1337.
- GOTO A., OKADO K., MARTINS N., CAI H., BARBIER V., LAMIALE O., TROXLER L., SANTIAGO E., KUHN L., PAIK D., SILVERMAN N., HOLLEUFER A., HARTMANN R., LIU J., PENG T., HOFFMANN J. A., MEIGNIN C., DAEFFLER L., IMLER J. L., 2018. *The kinase ikkβ regulates a sting- and nf-κb-dependent antiviral response pathway in Drosophila*. Immunity 49, 225-234.
- GÖTZ P., 1986. *Encapsulation in arthropods*. [W:] Immunity in Invertebrates. BREHÉLIN M. (red). Springer Berlin Heidelberg, 153-170.
- GREENFIELD M., GÓMEZ-JIMÉNEZ M. I., ORTIZ V., VEGA F. E., KRAMER M., PARSAS S., 2016. *Beauveria bassiana and metarhizium anisopliae endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation*. Biol. Control. 95, 40-48.
- DE GREGORIO E., SPELLMAN P. T., TZOU P., RUBIN G. M., LEMAITRE B., 2002. *The toll and imd pathways are the major regulators of the immune response in drosophila*. EMBO J. 21, 2568-2579.
- GRIESCH J., VILCINSKAS A., 1998. *Proteases released by entomopathogenic fungi impair phagocytic activity, attachment and spreading of plasmotocytes isolated from haemolymph of the greater wax moth galleria mellonella*. Biocontrol Sci. Technol. 8, 517-531.
- GROSS J., MÜLLER C., VILCINSKAS A., HILKER M., 1998. *Antimicrobial activity of exocrine glandular secretions, hemolymph, and larval regurgitate of the mustard leaf beetlephaedon cochleariae*. J. Invertebr. Pathol. 72, 296-303.
- GROSS J., SCHUMACHER K., SCHMIDTBERG H., VILCINSKAS A., 2008. *Protected by fumigants: beetle perfumes in antimicrobial defense*. J. Chem. Ecol. 34, 179-188.
- HAJEK A. E., ST LEGER R. J., 1994. *Interactions between fungal pathogens and insect hosts*. Annu. Rev. Entomol. 39, 293-322.
- HANCOCK R. E. W., BROWN K. L., MOOKHERJEE N., 2006. *Host defence peptides from invertebrates – emerging antimicrobial strategies*. Immunobiology 211, 315-322.
- HARITH-FADZILAH N., ABD GHANI I., HASSAN M., 2021. *Omics-based approach in characterising mechanisms of entomopathogenic fungi pathogenicity: A case example of Beauveria bassiana*. J. King Saud Univ. Sci. 33, 101332.
- HAWKINS N. J., BASS C., DIXON A., NEVE P., 2019. *The evolutionary origins of pesticide resistance*. Biol. Rev. 94, 135-155.
- HEGEDÜS N., MARX F., 2013. *Antifungal proteins: more than antimicrobials?* Fungal Biol. Rev. 26, 132-145.

- HOU H. X., GUO M. Y., GENG J., WEI X. Q., HUANG D. W., XIAO J. H., 2020. *Genome-wide analysis of peptidoglycan recognition protein genes in fig wasps (Hymenoptera, chalcidoidea)*. *Insects* 11, 1-11.
- HUNTER W. B., AVERY P. B., PICK D., POWELL C. A., 2011. *Broad spectrum potential of Isaria fumosorosea against insect pests of citrus*. *Florida Entomol.* 94, 1051-1504.
- HYNES R. O., ZHAO Q., 2000. *The evolution of cell adhesion*. *J. Cell Biol.* 150, 89-96.
- IMLER J. L., HOFFMANN J. A., 2000. *Signaling mechanisms in the antimicrobial host defense of Drosophila*. *Curr. Opin. Microbiol.* 3, 16-22.
- INGLE Y. V., BHOSALE D. N., KARANDE V. D., BRAMHANKAR S. B., MANE S. S., PAITHANKAR D. H., SADAWARTE A. K., 2022. *Identification, pathogenesis and compatibility of Aschersonia aleyrodis (Webber) with selected fungicides and insecticides*. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 42, 2093-2101.
- IRVING P., TROXLER L., HEUER T. S., BELVIN M., KOPCZYNSKI C., REICHART J. M., HOFFMANN J. A., HETRU CH., 2001. *A genome-wide analysis of immune responses in Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 15119-15124.
- JIANG Z. Y., LIGOXYGAKIS P., XIA Y. X., 2020. *Hyd3, a conidial hydrophobin of the fungal entomopathogen Metarhizium acridum induces the immunity of its specialist host locust*. *Int. J. Biol. Macromol.* 165, 1303-1311.
- JIN K., MING Y., XIA Y. X., 2012. *Mahog1, a hog1-type mitogen-activated protein kinase gene, contributes to stress tolerance and virulence of the entomopathogenic fungus Metarhizium acridum*. *Microbiology* 158, 2987-2996.
- KACZMAREK A., BOGUŚ M. I., 2021a. *The metabolism and role of free fatty acids in key physiological processes in insects of medical, veterinary and forensic importance*. *PeerJ* 9, e12563.
- KACZMAREK A., BOGUŚ M. I., 2021b. *Fungi of entomopathogenic potential in Chytridiomycota and Blastocladiomycota, and in fungal allies of the Oomycota and Microsporidia*. *IMA Fungus* 12, 29.
- KACZMAREK A., WROŃSKA A. K., KAZEK M., BOGUŚ M. I., 2022. *Octanoic acid – an insecticidal metabolite of Conidiobolus coronatus (entomophthorales) that affects two majors antifungal protection systems in Galleria mellonella (Lepidoptera), cuticular lipids and hemocytes*. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 5204.
- KANG S. C., PARK S., LEE D. G., 1999. *Purification and characterization of a novel chitinase from the entomopathogenic fungus, Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* 73, 276-281.
- KAZEK M., KACZMAREK A., WROŃSKA A. K., BOGUŚ M. I., 2021. *Dodecanol, metabolite of entomopathogenic fungus Conidiobolus coronatus, affects fatty acid composition and cellular immunity of Galleria mellonella and Calliphora vicina*. *Sci. Rep.* 11, 15963.
- KERSHAW M. J., WAKLEY G., TALBOT N. J., 1998. *Complementation of the mpg1 mutant phenotype in magnaporthe grisea reveals functional relationships between fungal hydrophobins*. *EMBO J.* 17, 3838-3849.
- KHAN S., GUO L., MAIMAITI Y., MIJIT M., QIU D., 2012. *Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent*. *Mol. Plant Breed.* 3, doi:10.5376/mpb.2012.03.0007.
- KHAYROVA A., LOPATIN S., VARLAMOV V., 2021. *Obtaining chitin, chitosan and their melanin complexes from insects*. *Int. J. Biol. Macromol.* 167, 1319-1328.
- KIM K. H., KABIR E., JAHAN S. A., 2017. *Exposure to pesticides and the associated human health effects*. *Sci. Total Environ.* 575, 525-535.
- KIRKLAND B. H., KEYHANI N. O., 2011. *Expression and purification of a functionally active class and fungal hydrophobin from the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana in E. coli*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38, 327-335.
- LACEY L. A., 2016. *Entomopathogens used as microbial control agents*. [W:] *Microbial control of insect and mite pests*. LACEY L. A. (red.). Elsevier Inc., Academic Press, 1-10.
- LANOT R., ZACHARY D., HOLDER F., MEISTER M., 2001. *Postembryonic hematopoiesis in Drosophila*. *Dev. Biol.* US 230, 243-257.
- LAVINE M. D., STRAND M. R., 2002. *Insect hemocytes and their role in immunity*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32, 1295-1309.
- LAZZARO B. P., ZASLOFF M., ROLFF J., 2020. *Antimicrobial peptides: Application informed by evolution*. *Science* 368, 5480.
- ST LEGER R. J., JOSHI L., BIDOCHKA M. J., ROBERTS D. W., 1996. *Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 6349-6354.
- LI C., ZHANG Q., XIA Y., JIN K., 2021. *MaAreB, a GATA transcription factor, is involved in nitrogen source utilization, stress tolerances and virulence in Metarhizium acridum*. *J. Fungi.* 7, 512.
- LI J., YING S. H., SHAN L. T., FENG M. G., 2010. *A new non-hydrophobic cell wall protein (CWP10) of Metarhizium anisopliae enhances conidial hydrophobicity when expressed in Beauveria bassiana*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 975-984.
- LIAO X., LU H. L., FANG W., ST LEGER R. J., 2014. *Overexpression of a Metarhizium robertsii HSP25 gene increases thermotolerance and survival in soil*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 777-783.
- LIN L., FANG W., LIAO X., WANG F., WEI D., ST LEGER R. J., 2011. *The MrCYP52 cytochrome P450 monooxygenase gene of Metarhizium robertsii is important for utilizing insect epicuticular hydrocarbons*. *PLoS One.* 6, e28984.
- LIU Y., YE N., CHEN M., ZHAO H., AN J., 2020. *Structural and functional analysis of pgrp-lc indicates exclusive dap-type pgn binding in bumblebees*. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2441.
- LOPEZ D. C., SWORD G. A., 2015. *The endophytic fungal entomopathogens Beauveria bassiana and Purpureocillium lilacinum enhance the growth of cultivated cotton (Gossypium hirsutum) and negatively affect survival of the cotton bollworm (Helicoverpa zea)*. *Biol. Control.* 89, 53-60.
- LORD J. C., HOWARD R. W., 2004. *A proposed role for the cuticular fatty amides of Liposcelis bostrychophila (Psocoptera: Liposcelidae) in preventing adhesion of entomopathogenic fungi with dry-conidia*. *Mycopathologia* 158, 211-217.
- LOWENBERGER C., 2001. *Innate immune response of Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31, 219-229.
- LU A., ZHANG Q., ZHANG J., YANG B., WU K., XIE W., LUAN Y. X., LING E., 2014. *Insect propheno-oxidase: The view beyond immunity*. *Front. Physiol.* 5, 252.
- MAKAROVA O., JOHNSTON P., RODRIGUEZ-ROJAS A., EL SHAZELY B., MORALES J. M., ROLFF J., 2018. *Genomics of experimental adaptation of Staphylococcus aureus to a natural combination of insect antimicrobial peptides*. *Sci. Rep.* 8, 1-8.

- MANNINO M. C., HUARTE-BONNET C., DAVYT-COLO B., PEDRINI N., 2019. *Is the insect cuticle the only entry gate for fungal infection? Insights into alternative modes of action of entomopathogenic fungi*. J. Fungi. 5, 33.
- MANTZOUKAS S., ELIOPOULOS P. A., 2020. *Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests*. Appl. Sci. 10, doi:10.3390/app10010360.
- MARSHALL R. K., LESTER M. T., GLARE T. R., CHRISTELLER J. T., 2003. *The fungus, Lecanicillium muscarium, is an entomopathogen of passionvine hopper (Scolypopa australis)*. New Zeal. J. Crop Hortic. Sci. Mar. 31, 1-7.
- MATHA V., ÁCEK Z., 2010. *Changes in haemocyte counts in Galleria mellonella (L.) (Lepidoptera: Galleriidae) larvae infected with Steinernema Sp. (Nematoda: Steinernematidae)*. Nematologica. 30, 86-89.
- MBURU D. M., NDUNG'U M. W., MANIANIA N. K., HASSANALI A., 2011. *Comparison of volatile blends and gene sequences of two isolates of Metarhizium anisopliae of different virulence and repellency toward the termite Macrotermes michaelseni*. J. Exp. Biol. 214, 956-962.
- MBURU D. M., MANIANIA N. K., HASSANALI A., 2013. *Comparison of volatile blends and nucleotide sequences of two Beauveria bassiana isolates of different virulence and repellency towards the termite Macrotermes michealseni*. J. Chem. Ecol. 39, 101-108.
- MEEKINS D. A., KANOST M. R., MICHEL K., 2017. *Serpins in arthropod biology*. Semin. Cell Dev. Biol. 62, 105-19.
- MEISTER M., LAGUEUX M., 2003. *Drosophila blood cells*. Cell. Microbiol. 5, 573-580.
- MEISTER M., HETRU C., HOFFMANN J. A., 2000. *The antimicrobial host defense of Drosophila*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 248, 17-36.
- MOWLDS P., COATES C., RENWICK J., KAVANAGH K., 2010. *Dose-dependent cellular and humoral responses in Galleria mellonella larvae following beta-glucan inoculation*. Microbes Infect. 12, 146-153.
- MUŽINIĆ V., ŽELJEŽIĆ D., 2018. *Non-target toxicity of novel insecticides*. Arh. Hig. Rada Toksikol. 69, 86-102.
- NAPPI A. J., VASS E., FREY F., CARTON Y., 2000. *Nitric oxide involvement in Drosophila immunity*. Nitric Oxide – Biol. Chem. 4, 423-430.
- NARAYANAN K., 2004. *Insect defence: Its impact on microbial control of insect pests*. Curr. Sci. 86, 800-814.
- NEUWIRTHOVÁ N., TROJAN M., SVOBODOVÁ M., VAŠIČKOVÁ J., ŠIMEK Z., HOFMAN J., BIELSKÁ L., 2019. *Pesticide residues remaining in soils from previous growing season(s) – Can they accumulate in non-target organisms and contaminate the food web?* Sci. Total Environ. 646, 1056-1062.
- NISHIDE Y., KAGEYAMA D., YOKOI K., JOURAKU A., TANAKA H., FUTAHASHI R., FUKATSU T., 2019. *Functional crosstalk across IMD and Toll pathways: Insight into the evolution of incomplete immune cascades*. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 286, doi:10.1098/rspb.2018.2207.
- NUNES C., SUCENA Ê., KOYAMA T., 2021. *Endocrine regulation of immunity in insects*. FEBS J. 288, 3928-3947.
- NUSSENBAUM A. L., LECUONA R. E., 2012. *Selection of Beauveria bassiana sensu lato and Metarhizium anisopliae sensu lato isolates as microbial control agents against the boll weevil (Anthonomus grandis) in Argentina*. J. Invertebr. Pathol. 110, 1-7.
- ORTIZ-URQUIZA A., KEYHANI N. O., 2013. *Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle*. Insects 4, 357-374.
- OWNLEY B. H., GWINN K. D., VEGA F. E., 2010. *Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: Ecology and evolution*. BioControl. 55, 113-128.
- ÖZKARA A., AKYIL D., KONUK M., 2016. *Pesticides, Environmental Pollution, and Health*. Environ. Heal. Risk-Hazard. Factors to Living Species.
- PAL S., ST LEGER R. J., WU L. P., 2007. *Fungal peptide destruxin plays a specific role in suppressing the innate immune response in Drosophila melanogaster*. J. Biol. Chem. 282, 8969-8977.
- PAULA A. R., CAROLINO A. T., SILVA C. P., SAMUELS R. I., 2011. *Susceptibility of adult female Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) to the entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae is modified following blood feeding*. Parasites Vectors 4, 91.
- PECH L. L., STRAND M. R., 1996. *Granular cells are required for encapsulation of foreign targets by insect haemocytes*. J. Cell Sci. 109, 2053-2060.
- PEDRINI N., 2022. *The Entomopathogenic fungus Beauveria bassiana shows its toxic side within insects: Expression of genes encoding secondary metabolites during pathogenesis*. J. Fungi. 8, 488.
- PEDRINI N., ORTIZ-URQUIZA A., HUARTE-BONNET C., ZHANG S., KEYHANI N. O., 2013. *Targeting of insect epicuticular lipids by the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana: Hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction*. Front. Microbiol. 4, 24.
- PEDRINI N., ZHANG S., JUÁREZ M. P., KEYHANI N. O., 2010. *Molecular characterization and expression analysis of a suite of cytochrome P450 enzymes implicated in insect hydrocarbon degradation in the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana*. Microbiol. Soc. 156, 2549-2557.
- PENDLAND J. C., BOUCLAS D. G., 1998. *Characterization of monoclonal antibodies against cell wall epitopes of the insect pathogenic fungus, Nomuraea rileyi: Differential binding to fungal surfaces and cross-reactivity with host hemocytes and basement membrane components*. Eur. J. Cell Biol. 75, 118-127.
- PILSCZEK F. H., SALINA D., POON K. K. H., FAHEY C., YIPP B. G., SIBLEY C. D., ROBBINS S. M., GREEN F. H., SURETTE M. G., SUGAI M., BOWDEN M. G., HUSSAIN M., ZHANG K., KUBES P., 2010. *A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to Staphylococcus aureus*. J. Immunol. Am Assoc Immunol. 185, 7413-7425.
- POPADIĆ A., TSITLAKIDOU D., 2021. *Regional patterning and regulation of melanin pigmentation in insects*. Curr. Opin. Genet. Dev. 69, 163-170.
- PRAYOGO Y., BAYU M. S. Y. I., INDIATI S. W., MEJAYA M. J., 2022. *Morphological characters and efficacy of thirteen entomopathogenic fungi of Aschersonia aleyrodis Webber isolates on whitefly (Bemisia tabaci Gennadius)*. AIP Conference Proc. 2462, 060008.
- RAHIMI N., AVERBUKH I., CARMON S., SCHEJTER E. D., BARKAI N., SHILO B. Z., 2019. *Dynamics of Spaetzle morphogen shuttling in the Drosophila embryo shapes gastrulation patterning*. Development 146, 181487.
- RATCLIFFE N. A., GAGEN S. J., 1977. *Studies on the in vivo cellular reactions of insects: An ultra-*

- structural analysis of nodule formation in *Galleria mellonella*. *Tissue Cell*. 9, 73-85.
- REDDY N., MAHESH G., PRIYA M., SINGH R. U. S., MANJUNATHA L., 2020. *Hirsutella*. [W:] *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. AMARESAN N., SENTHIL KUMAR M., ANNAPURNA K., KRISHNA KUMAR, SANKARANARAYANAN A. (red.). Academic Press, 817-831.
- RIBEIRO C., BREHÉLIN M., 2006. *Insect haemocytes: What type of cell is that?* *J. Insect Physiol.* 52, 417-429.
- RIBEIRO C., SIMÕES N., BREHÉLIN M., 1996. *Insect immunity: The haemocytes of the armyworm *Mythimna unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) and their role in defence reactions. In vivo and in vitro studies.* *J. Insect Physiol.* 42, 815-822.
- RIZKI M. T. M., 1957. *Alterations in the haemocyte population of *Drosophila melanogaster*.* *J. Morphol.* 100, 437-458.
- RIZKI M. T., RIZKI R. M., 1959. *Functional significance of the crystal cells in the larva of *Drosophila melanogaster*.* *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 5, 235-240.
- ROBB C. T., DYRYNDA E. A., GRAY R. D., ROSSI A. G., SMITH V. J., 2014. *Invertebrate extracellular phagocyte traps show that chromatin is an ancient defence weapon.* *Nat. Commun.* 5, 1-11.
- RODITAKIS E., COUZIN I. D., FRANKS N. R., CHARNLEY A. K., 2008. *Effects of *Lecanicillium longisporum* infection on the behaviour of the green peach aphid *Myzus persicae*.* *J. Insect Physiol.* 54, 128-136.
- RUSSO J., 1996. *Insect immunity: Early events in the encapsulation process of parasitoid (*Leptopilina boulardi*) eggs in resistant and susceptible strains of *Drosophila*.* *Parasitology* 112, 135-142.
- SAITO T., AOKI J., 1983. *Toxicity of free fatty acids on the larval surfaces of two lepidopterous insects towards *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces fumoso-roseus* (Wize) Brown et Smith (Deuteromycetes?: Moniliales).* *Appl. Entomol. Zool.* 18, 225-233.
- SÁNCHEZ-PÉREZ DE L. C., BARRANCO-FLORIDO J. E., RODRÍGUEZ-NAVARRO S., CERVANTES-MAYAGOITIA J. F., RAMOS-LÓPEZ M. Á., 2014. *Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights.* *Adv. Enzym. Res.* 2, 65-76.
- SANI I., ISMAIL S. I., ABDULLAH S., JALINAS J., JAMIAN S., SAAD N., 2020. *A Review of the biology and control of whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), with special reference to biological control using entomopathogenic fungi.* *Insects* 11, 619.
- SANTI L., BEYS DA SILVA W. O., BERGER M., GUIMARÃES J. A., SCHRANK A., VAINSTEIN M. H., 2010. *Conidial surface proteins of *Metarhizium anisopliae*: Source of activities related with toxic effects, host penetration and pathogenesis.* *Toxicon* 55, 874-880.
- SARVARI M., MIKANI A., MEHRABADI M., 2020. *The innate immune gene Relish and Caudal jointly contribute to the gut immune homeostasis by regulating antimicrobial peptides in *Galleria mellonella*.* *Dev. Comp. Immunol.* 110, 103732.
- SASAN R. K., BIDOCHKA M. J., 2012. *The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development.* *Am. J. Bot.* 99, 101-107.
- SASS M., KISS A., LOCKE M., 1994. *Integument and hemocyte peptides.* *J. Insect Physiol.* 40, 407-421.
- SATYAVATHI V. V., MINZ A., NAGARAJU J., 2014. *Nodulation: An unexplored cellular defense mechanism in insects.* *Cell. Signal.* 26, 1753-1763.
- SCHMIDT O., THEOPOLD U., STRAND M., 2001. *Innate immunity and its evasion and suppression by hymenopteran endoparasitoids.* *BioEssays*. 23, 344-351.
- SCHMIT A. R., RATCLIFFE N. A., 1977. *The encapsulation of foreign tissue implants in *Galleria mellonella* larvae.* *J. Insect Physiol.* 23, 175-184.
- SCHOLTE E.-J., KNOLS B. G. J., SAMSON R. A., TAKKEN W., 2004. *Entomopathogenic fungi for mosquito control: A review.* *J. Insect Sci.* 4, 1-24.
- SCHRANK A., VAINSTEIN M. H., 2010. *Metarhizium anisopliae enzymes and toxins.* *Toxicon* 56, 1267-1274.
- SEVIM A., DEMIR I., DEMIRBAG Z., 2010. *Molecular characterization and virulence of *beauveria* spp. from the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae).* *Mycopathologia* 170, 269-277.
- SEVIM A., DONZELLI B. G. G., WU D., DEMIRBAG Z., GIBSON D. M., TURGEON B. G., 2012. *Hydrophobin genes of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium brunneum*, are differentially expressed and corresponding mutants are decreased in virulence.* *Curr. Genet. US* 58, 79-92.
- SHAH P. A., PELL J. K., 2003. *Entomopathogenic fungi as biological control agents.* *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61, 413-423.
- SHAHRIARI M., ZIBAEI A., KHODAPARAST S. A., FAZELI-DINAN M., 2021. *Screening and virulence of the entomopathogenic fungi associated with chilo suppressalis walker.* *J. Fungi* 7, 1-19.
- SHAKEEL M., XU X., DE MANDAL S., JIN F., 2019. *Role of serine protease inhibitors in insect-host-pathogen interactions.* *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 102, e21556.
- SHANG J., SHANG Y., TANG G., WANG C., 2021. *Identification of a key G-protein coupled receptor in mediating appressorium formation and fungal virulence against insects.* *Sci. China Life Sci.* 64, 466-477.
- SHEEHAN G., GARVEY A., CROKE M., KAVANAGH K., 2018. *Innate humoral immune defences in mammals and insects: The same, with differences?* *Virulence* 9, 1625-1639.
- SHEEHAN G., MARGALIT A., SHEEHAN D., KAVANAGH K., 2021. *Proteomic profiling of bacterial and fungal induced immune priming in *Galleria mellonella* larvae.* *J. Insect Physiol.* 131, 104213.
- SHIN S. W., BIAN G., RAIKHEL A. S., 2006. *A toll receptor and a cytokine, Toll5A and Spz1C, are involved in toll antifungal immune signaling in the mosquito *Aedes aegypti*.* *J. Biol. Chem.* 281, 39388-39395.
- SMALL C. L. N., BIDOCHKA M. J., 2005. *Up-regulation of Pr1, a subtilisin-like protease, during conidiation in the insect pathogen *Metarhizium anisopliae*.* *Mycol. Res.* 109, 307-313.
- SMITH R. J., GRULA E. A., 1982. *Toxic components on the larval surface of the corn earworm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*.* *J. Invertebr. Pathol.* 39, 15-22.
- SOSA-GÓMEZ D. R., BOUCIAS D. G., NATION J. L., 1997. *Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes.* *J. Invertebr. Pathol.* 69, 31-39.
- SOWA-JASILEK A., ZDYBICKA-BARABAS A., STACZEK S., PAWLIKOWSKA-PAWŁĘGA B., GRYGORCZUK-PLANETA K., SKRZYPIEC K., GRUSZECKI W. I., MAK P.,

- CYTRYŃSKA M., 2020. Antifungal activity of anionic defense peptides: Insight into the action of galleria mellonella anionic peptide 2. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 1912.
- STĄCZEK S., ZDYBICKA-BARABAS A., WOJDA I., WIATER A., MAK P., SUDER P., KRZYPIEC K., CYTRYŃSKA M., 2021. Fungal α -1,3-glucan as a new pathogen-associated molecular pattern in the insect model host galleria mellonella. *Molecules* 26, 5097.
- STANLEY J., PREETHA G., 2016. *Pesticide toxicity to non-target organisms: Exposure, toxicity and risk assessment methodologies*. Springer Dordrecht.
- STOKES B. A., YADAV S., SHOKAL U., SMITH L. C., ELEFTHERIANOS I., 2015. Bacterial and fungal pattern recognition receptors in homologous innate signaling pathways of insects and mammals. *Front. Microbiol.* 6, 19.
- STRAND M. R., 2008. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Immunol.* 25-47.
- STRAND M. R., NODA T., 1991. Alterations in the haemocytes of *Pseudoplusia includens* after parasitism by *Microplitis demolitor*. *J. Insect Physiol.* 37, 839-850.
- STRAND M. R., PECH L. L., 1995. Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annu. Rev. Entomol.* 40, 31-56.
- SU X., JIAO R., LIU Z., XIA Y., CAO Y., 2021. Functional and characteristic analysis of an appressorium-specific promoter *PMag1* in *Metarhizium acridum*. *J. Invertebr. Pathol.* 182, 107565.
- SUGUMARAN M., BAREK H., 2016. Critical analysis of the melanogenic pathway in insects and higher animals. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1753.
- SUN M., LIU X., 2006. Carbon requirements of some nematophagous, entomopathogenic and mycoparasitic Hyphomycetes as fungal biocontrol agents. *Mycopathologia* 161, 295-305.
- TAKEUCHI K., REUE K., 2009. Biochemistry, physiology, and genetics of GPAT, AGPAT, and lipin enzymes in triglyceride synthesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol.* 296, 1195-1209.
- TALL S., MEYLING N. V., 2018. Probiotics for plants? growth promotion by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* depends on nutrient availability. *Microb. Ecol.* 76, 1002-1008.
- TRAGUST S., MITTEREGGER B., BARONE V., KONRAD M., UGELVIG L. V., CREMER S., 2013. Ants disinfect fungus-exposed brood by oral uptake and spread of their poison. *Curr. Biol.* 23, 76-82.
- TREVIJANO-CONTADOR N., ZARAGOZA O., 2019. Immune response of *Galleria mellonella* against human fungal pathogens. *J. Fungi* 5, 3.
- TSAI C. J. Y., LOH J. M. S., PROFT T., 2016. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence* 7, 214-229.
- TULI L., RESSOM H. W., 2009. LC-MS based detection of differential protein expression. *J. Proteomics Bioinform.* 2, 416-438.
- ULLAH M. I., ALTAH N., AFZAL M., ARSHAD M., MEHMOOD N., RIAZ M., MAJEED S., ALI S., ABDULLAH A., 2019. Effects of entomopathogenic fungi on the biology of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and its reduviid predator, *Rhynocoris marginatus* (Heteroptera: Reduviidae). *Int. J. Insect Sci.* 11, 1179543319867116.
- UMA DEVI K., PADMAVATHI J., UMA MAHESWARA RAO C., KHAN A. A. P., MOHAN M. C., 2008. A study of host specificity in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Hypocreales, Clavicipitaceae). *Biocontrol Sci. Technol.* 18, 975-989.
- URBAN C. F., REICHARD U., BRINKMANN V., ZYCHLINSKY A., 2006. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* and hyphal forms. *Cell. Microbiol.* 8, 668-676.
- URBANEK A., SZADZIEWSKI R., STEPNOWSKI P., BOROS-MAJEWSKA J., GABRIEL I., DAWGUL M., SOSNOWSKA D., GOŁEBIOWSKI M., 2012. Composition and antimicrobial activity of fatty acids detected in the hygroscopic secretion collected from the secretory setae of larvae of the biting midge *Forcipomyia nigra* (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Insect Physiol.* 58, 1265-1276.
- VAVRICKA C. J., HAN Q., MEHERE P., DING H., CHRISTENSEN B. M., LI J., 2014. Tyrosine metabolic enzymes from insects and mammals: A comparative perspective. *Insect Sci.* 21, 13-19.
- WAGNER B. L., LEWIS L. C., 2000. Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 3468-3473.
- WANG C., ST LEGER R. J., 2006. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 6647-6652.
- WANG C., ST LEGER R. J., 2007a. The *MAD1* adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the *MAD2* adhesin enables attachment to plants. *Eukaryot. Cell.* 6, 808-816.
- WANG C., ST LEGER R. J., 2007b. The *Metarhizium anisopliae* perilipin homolog *MPL1* regulates lipid metabolism, appressorial turgor pressure, and virulence. *J. Biol. Chem.* 282, 21110-21105.
- WANG J., ZHOU G., YING S. H., FENG M. G., 2013. P-type calcium ATPase functions as a core regulator of *Beauveria bassiana* growth, conidiation and responses to multiple stressful stimuli through cross-talk with signalling networks. *Environ. Microbiol.* 15, 967-979.
- WANG Q., REN M., LIU X., XIA H., CHEN K., 2019. Peptidoglycan recognition proteins in insect immunity. *Mol. Immunol.* 106, 69-76.
- WANG T., CHENG J., WANG S., WANG X., JIANG H., YANG Y., WANG Y., ZHANG C., LIANG W., FENG H., 2018. α -Lipoic acid attenuates oxidative stress and neurotoxicity via the ERK/Akt-dependent pathway in the mutant *hSOD1* related *Drosophila* model and the NSC34 cell line of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res. Bull.* 140, 299-310.
- WEI Q., DU Y., JIN K., XIA Y., 2017. The *Ste12*-like transcription factor *MaSte12* is involved in pathogenicity by regulating the appressorium formation in the entomopathogenic fungus, *Metarhizium acridum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101, 8571-8584.
- WENDEL A. A., LEWIN T. M., COLEMAN R. A., 2009. Glycerol-3-phosphate acyltransferases: Rate limiting enzymes of triacylglycerol biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1791, 501-506.
- WIELOCH W., BOGUŚ M. I., LIGEZA M., KOSZELA-PIOTROWSKA I., SZEWCZYK A., 2011. Coronatin-1 isolated from entomopathogenic fungus *Conidobolus coronatus* kills *Galleria mellonella* hemocytes in vitro and forms potassium channels in planar lipid membrane. *Toxicon* 58, 369-379.
- WINTER C. K., 2017. *Pesticide Residues in Foods*. [W:] *Chemical Contaminants and Residues in Food*. SCHRENK D., CARTUS A. (red.). Elsevier, Crossref, 155-169.
- WOJDA I., 2017. Immunity of the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Insect Sci.* 24, 342-357.
- WOLF A. J., UNDERHILL D. M., 2018. Peptidoglycan recognition by the innate immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 18, 243-254.

- WROŃSKA A. K., BOGUŚ M. I., 2019. Harman and norharman, metabolites of the entomopathogenic fungus *Conidiobolus coronatus* (Entomophthorales), affect the serotonin levels and phagocytic activity of hemocytes, insect immunocompetent cells, in *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *Cell Biosci.* 9, 29.
- WROŃSKA A. K., BOGUŚ M. I., KACZMAREK A., KAZEK M., 2018a. Harman and norharman, metabolites of entomopathogenic fungus *Conidiobolus coronatus* (Entomophthorales), disorganize development of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) and affect serotonin-regulating enzymes. *PLoS One* 13, e0204828.
- WROŃSKA A. K., BOGUŚ M. I., WŁÓKA E., KAZEK M., KACZMAREK A., ZALEWSKA K., 2018b. Cuticular fatty acids of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) inhibit fungal enzymatic activities of pathogenic *Conidiobolus coronatus*. *PLoS One* 13, e0192715.
- XIAO G., YING S. H., ZHENG P., WANG Z. L., ZHANG S., XIE X. Q. i współaut., 2012. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Sci. Rep.* 2, 483.
- YI H. Y., CHOWDHURY M., HUANG Y. D., YU X. Q., 2014. Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98, 5807-5822.
- YING S. H., FENG M. G., 2004. Relationship between thermotolerance and hydrophobin-like proteins in aerial conidia of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* as fungal biocontrol agents. *J. Appl. Microbiol.* 97, 323-331.
- YIPP B. G., KUBES P., 2013. NETosis: How vital is it? *Blood. Am. Soc. Hematol.* 122, 2784-2794.
- YOUSEFI S., MIHALACHE C., KOZŁOWSKI E., SCHMID I., SIMON H. U., 2009. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps. *Cell Death Differ.* 16, 1438-1444.
- YU B., SANG Q., PAN G., LI C., ZHOU Z., 2020. A Toll-Spätzle pathway in the immune response of *Bombyx mori*. *Insects* 11, 1-13.
- YU D., XIE R., WANG Y., XIE T., XU L., HUANG B., 2021. The G-protein coupled receptor GPRK contributes to fungal development and full virulence in *Metarhizium robertsii*. *J. Invertebr. Pathol.* 183, 107627.
- YUN J. E., LEE D. G., 2016. Cecropin A-induced apoptosis is regulated by ion balance and glutathione antioxidant system in *Candida albicans*. *IUBMB Life.* 68, 652-662.
- ZARE R., GAMS W., 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. VI. The genus *Haptocillium*. *Nov. Hedwigia.* 73, 271-292.
- ZHANG C., SHAO Z., HAN Y., WANG X., WANG Z., MUSA P. D., BAO-LI Q., SHAUKAT A., 2018. Effects of *Aschersonia aleyrodis* on the life table and demographic parameters of *Bemisia tabaci*. *J. Integr. Agric.* 17, 389-396.
- ZHANG K., SHEN L., WANG X., YANG H., ZHANG X., PAN G., LI C., JI H., ABBAS M. N., LI C., CUI H., 2021. Scavenger receptor C regulates antimicrobial peptide expression by activating toll signaling in silkworm, *Bombyx mori*. *Int. J. Biol. Macromol.* 191, 396-404.
- ZHANG L., YUE Q., WANG C., XU Y., MOLNÁR I., 2020. Secondary metabolites from hypocrealean entomopathogenic fungi: Genomics as a tool to elucidate the encoded parvome. *Nat. Prod. Rep.* 37, 1164-80.
- ZHANG S., WIDEMANN E., BERNARD G., LESOT A., PINOT F., PEDRINI N., KEYHANI N. O., 2012. CYP52X1, representing new cytochrome P450 subfamily, displays fatty acid hydroxylase activity and contributes to virulence and growth on insect cuticular substrates in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *J. Biol. Chem.* 287, 13477-13486.
- ZHANG S., XIA Y. X., KIM B., KEYHANI N. O., 2011. Two hydrophobins are involved in fungal spore coat rodlet layer assembly and each play distinct roles in surface interactions, development and pathogenesis in the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Mol. Microbiol.* 80, 811-826.
- ZHAO H., CHARNLEY A. K., WANG Z., YIN Y., LI Z., LI Y., CAO Y., PENG G., XIA Y., 2006. Identification of an extracellular acid trehalase and its gene involved in fungal pathogenesis of *Metarhizium anisopliae*. *J. Biochem.* 140, 319-327.
- ZHAO S., WANG X., CAI S., ZHANG S., LUO H., WU C., ZHANG R., ZHANG J., 2018. A novel peptidoglycan recognition protein involved in the prophenoloxidase activation system and antimicrobial peptide production in *Antheraea pernyi*. *Dev. Comp. Immunol.* 86, 78-85.
- ZHENG X., LI S., SI Y., HU J., XIA Y., 2020. Locust can detect β -1, 3-glucan of the fungal pathogen before penetration and defend infection via the Toll signaling pathway. *Dev. Comp. Immunol.* 106, 103636.
- ZIBAE A., RAMZI S., 2018. Cuticle-degrading proteases of entomopathogenic fungi: from biochemistry to biological performance. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 51, 779-794.
- ZIBAE A., BANDANI A. R., TALAEI-HASSANLOUEI R., MALAGOLI D., 2011. Cellular immune reactions of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*, to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and its secondary metabolites. *J. Insect Sci.* 11, 138.
- ZIMMERMANN G., 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pestic. Sci.* 37, 375-359.
- ZIMMERMANN G., 2007a. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci. Technol.* 17, 553-596.
- ZIMMERMANN G., 2007b. Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Sci. Technol.* 17, 879-920.

AGATA KACZMAREK¹, ANNA KATARZYNA WROŃSKA¹, JUSTYNA SOBICH¹, MIKOŁAJ DROZDOWSKI¹,
MIECZYŚLAWA IRENA BOGUŚ^{1,2}

¹ *The Witold Stefański Institute of Parasitology PAS, 51/55 Twarda Str., 00-818 Warszawa*

² *Biomibo, 15 Strzygłowska Str., 04-866 Warszawa, E-mail: aga_kaczm@twarda.pan.pl*

INSECT IMMUNITY MECHANISMS AND THEIR BREAKING BY ENTOMOPATHENIC FUNGUS

Summary

Pests are most commonly controlled using pesticides. However, despite their high efficiency, their use is not without its disadvantages, such as the development of pest resistance, low selectivity of action, the potential for accumulation in water and soil as well as negative impact on human and animal health. One promising alternative involves the use of entomopathogenic organisms. Unlike bacteria and viruses, entomopathogenic fungi have the ability to digest the insect cuticle. The infection is a multi-step process. The key moment is the adhesion of the spore to the surface of the cuticle: the first mechanical barrier to protect against fungal infection. If the cuticle is breached, the pathogens encounter the immune system with its cellular and humoral defense mechanisms. A more detailed knowledge of both the infection process and insect defense mechanisms is needed to support the commercial use of entomopathogens in the control of harmful insects.

Key words: cuticle, entomopathogenic fungi, hemocytes, insect humoral defence, pests