

ZAŁĄCZNIK 2

GRZYBY (FUNGI) I WYLINKOWCE (ECDYSOZOA) – ZŁOŻONOŚĆ I PLASTYCZNOŚĆ INTERAKCJI

AUTOREFERAT. OPIS OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO
MARTA WRZOSEK
ZAKŁAD FILOGENETYKI MOLEKULARNEJ I EWOLUCJI
WYDZIAŁ BIOLOGII, UNIWERSYTET WARSZAWSKI
WARSZAWA, 2017



1. IMIĘ I NAZWISKO

Marta Wrzosek

2. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE

2000, Uzyskanie stopnia doktora nauk biologicznych, Uniwersytet Warszawski, temat pracy: Taksonomia i filogeneza Mucorales (Zygomycetes) w świetle analiz morfometrycznych oraz wybranych markerów molekularnych. (wyróżnienie)

Promotor: dr hab. Alicja Borowska Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Wydział Biologii UW.

Recenzenci: prof. dr hab. Ewa Bartnik, Zakład Genetyki, Wydział Biologii UW, Warszawa,

prof. dr hab. Stanisław Bałazy, Instytut Badania Środowiska Rolniczego i Leśnego PAN, Poznań.

1993, Uzyskanie tytułu magistra, Uniwersytet Warszawski, temat pracy: Badania nad merosporangialnymi i sporangiolowymi Mucorales.

Promotor: dr hab. Andrzej Batko, prof. UW.

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

2007-do dnia dzisiejszego – starszy wykładowca, Zakład Filogenetyki Molekularnej i Ewolucji, Wydział Biologii UW

2000-2007 – adiunkt Zakład Systematyki i Geografii Roślin, Wydział Biologii UW

1996-2000 – student studiów doktoranckich na Wydziale Biologii UW

1993-1996 – asystent w Zakładzie Systematyki i Geografii Roślin, Wydział Biologii UW

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA* WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.):

A. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Grzyby (Fungi) i wylinkowce (Ecdysozoa) – złożoność i plastyczność

Interakcji



B. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO ZE SZCZEGÓŁOWYM OMÓWIENIEM INDYWIDUALNEGO WKŁADU WNIOSKODAWCY (AUTOR/AUTORZY, TYTUŁ/TYTUŁY PUBLIKACJI, ROK WYDANIA, NAZWA WYDAWNICTWA)

4. 1. BAŁAZY S., MIĘTKIEWSKI R., TKACZUK C., WEGENSTEINER R., WRZOSEK M., DIVERSITY OF ACAROPATHOGENIC FUNGI IN POLAND AND OTHER EUROPEAN COUNTRIES, (2008), EXP. APPL. ACAROL. 46: 53-70., PRZEDRUK W: BRUIN J& VAN DER GEEST LPS. (ED.) DISEASES OF MITES AND TICKS (2009). SPRINGER PP.53-70.

IF (2008) = 1.2; IF (5Y) = 1.336; punktacja MNiSW z 2008 = 20; liczba cytowań wg Web of Science – 8, wg Google Scholar - 13.

Wkład własny – 45 %, udział w dyskusji nad koncepcją badań, zaplanowanie prac laboratoryjnych, uczestnictwo w wyjazdach mających na celu pozyskiwanie materiału do badań, hodowla szczepów, analiza oraz interpretacja wyników badań, wykonanie reakcji polimerazy oraz sekwencjonowania, analiz filogenetycznych, zdeponowanie danych w bazie GenBank (NCBI), udział w przygotowywaniu manuskryptu.

4.2. BAŁAZY S., WRZOSEK M., SOSNOWSKA D., TKACZUK C., MUSZEWSKA A., LABORATORY TRIALS TO INFECT INSECTS AND NEMATODES BY SOME ACAROPATHOGENIC HIRSUTELLA STRAINS (MYCOTA: CLAVICIPITACEOUS ANAMORPHS), (2008), JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY 97: 103-113.

IF (2008) = 2.00; IF (5Y) = 1.971; punktacja MNiSW z 2008 = 24; liczba cytowań wg bazy Web of Science – 10; wg Google Scholar – 17

Wkład własny – 50 %, udział w dyskusji nad koncepcją badań, zaplanowanie prac laboratoryjnych, uczestnictwo w wyjazdach mających na celu pozyskiwanie materiału do badań, hodowla szczepów, analiza oraz interpretacja wyników badań, wykonanie reakcji polimerazy oraz sekwencjonowania, analiz filogenetycznych, zdeponowanie danych w bazie GenBank (NCBI), udział w przygotowywaniu manuskryptu, opieka nad studentką A. Muszewską, która jest współautorem publikacji.

4.3. WRZOSEK M., DUBIEL G., GORCZAK M., PAWŁOWSKA J., TISCHER M., BAŁAZY S., NEW INSIGHTS ON THE PHYLOGENY AND BIOLOGY OF THE FUNGAL ANT PATHOGEN *AEGERITELLA*, (2016), JOURNAL OF INVERTEBRATE PATHOLOGY 133:1-7.

IF (2016) = 2.379; IF (5Y) = 2.559; punktacja MNiSW – 40; liczba cytowań wg bazy Web of Science – 0, wg Google Scholar - 0

Wkład własny – 45 %, dominujący udział w dyskusji nad koncepcją badań, zaplanowanie prac laboratoryjnych, uczestnictwo w wyjazdach mających na celu pozyskiwanie materiału do badań, hodowla szczepów, analiza oraz interpretacja wyników badań, opieka nad studentami będącymi współautorami (M. Gorczak, M. Tischer), wykonanie ilustracji, dominujący udział w przygotowywaniu manuskryptu.



4.4 WRZOSEK M., RUSZKIEWICZ-MICHALSKA M., SIKORA K., DAMSZEL M., SIEROTA Z., THE PLASTICITY OF FUNGAL INTERACTIONS, (2017), MYCOL. PROGRESS 16:101–108, DOI 10.1007/S11557-016-1257-X

IF (2016) =1.616; IF (5Y) =1.632, punktacja MNiSW = 20; liczba cytowań wg bazy Web of Science – 1, wg Google Scholar –1

Wkład własny – 30 %, udział w dyskusji nad koncepcją pracy, zbiór i analiza materiałów, podział tematów na współautorów, znaczący udział w przygotowywaniu manuskryptu, dominujący wkład w dyskusję z recenzentami, korespondencja z edytorami.

4.5 SIEDLECKI I., PAWŁOWSKA J., WRZOSEK M., *MORTIERELLA FORMICAE* SP.NOV., [W:] HYDE K.D, NORPHANPHOUN CH, ABREU V.P ET AL. FUNGAL DIVERSITY NOTES 603-710: TAXONOMIC AND PHYLOGENETIC NOTES ON GENERA AND SPECIES, (2017), FUNGAL DIVERSITY87: 221-224, DOI:10.1007/S13225-017-0391-3

IF (2016)=13.465; IF (5Y)=9.104; punktacja MNiSW = 45, liczba cytowań wg bazy Web of Science – 0, Google Scholar – 0

Praca wchodzi w skład zbiorowej publikacji jako rozdział. Wkład własny w rozdział - 60%, opieka merytoryczna nad pracą magisterską studenta (I. Siedlecki, pierwszy autor pracy), udział w dyskusji nad koncepcją badań, zaplanowanie prac laboratoryjnych, prowadzenie wyjazdów mających na celu pozyskiwanie materiału do badań, nadzór nad hodowlą szczepów, identyfikacja grzyba, udział w interpretacji wyników badań molekularnych, przygotowanie szczepu typowego do zdeponowania w CBS, dominujący udział w przygotowywaniu manuskryptu – opracowanie diagnozy gatunkowej, wykonanie ilustracji.

4.6 RUSZKIEWICZ-MICHALSKA M., PAWŁOWSKA J. STANIASZEK-KIK M., ROMAŃSKI M., WRZOSEK M., *TOLYPOCLADIUM FUMOSUM* SP. NOV. NO. 623 [W:] CROUS P.W., WINGFIELD M.J., BURGESS T.I. ET AL., (2017), FUNGAL PLANET DESCRIPTION SHEETS: 558–624. PERSOONIA 38: 378-379, [HTTPS://DOI.ORG/10.3767/003158517X698941](https://doi.org/10.3767/003158517X698941)

IF (2016) = 7.511; IF (5Y)=7.097; pkt. MNiSW = 40; liczba cytowań wg bazy Web of Science – 0, wg Google Scholar–1

Praca wchodzi w skład zbiorowej publikacji jako rozdział. Wkład własny - 50%, udział w dyskusji nad koncepcją badań, zaplanowanie prac laboratoryjnych, hodowla szczepów, wydzielenie anamorfy *Toly-pocladium* od anamorfy zbliżonego morfologicznie i filogenetycznie mykopasożyta, wykonanie ilustracji, analiza oraz interpretacja wyników badań, przygotowanie typu gatunkowego dla CBS, dominujący udział w przygotowywaniu manuskryptu.

DANE SCJENTOMETRYCZNE DLA OSIĄGNIĘCIA HABILITACYJNEGO:

Suma IF=28,171, Suma punktów MNiSW=189

Suma cytowań wg Web of Science 19



Wstęp:

Mycology must grow fast beyond where it is today. The potential of fungi for a more sustainable world must be released to address global challenges of climate change, higher demands on natural resources, and the increased burden of life-style diseases.

L. Lange (2014)

Ernst Mayr (1997) uznał, że biologia jako dziedzina może odpowiadać na pytania: *Co? Jak? Dlaczego?* Mykologia jest tym sektorem, w którym w odróżnieniu od botaniki i zoologii ciągle, w dużej mierze, szuka się odpowiedzi na pytanie „Co?”. Meredith Blackwell (2011) konstatuje, że znamy ciągle bardzo niewielką część królestwa liczącego na pewno grubo ponad milion, a może nawet 5 mln gatunków. Zastosowania grzybów w biotechnologii i zaawansowane badania ekologiczne mogą być prowadzone w oparciu o prace taksonomiczne, których liczba stale rośnie. Jak twierdzi Lange (2014): *the scientific discipline mycology has built comprehensive understanding within fungal biodiversity, classification, evolution, genetics, physiology, ecology, pathogenesis, and nutrition. Applied mycology could not make progress without this platform.*

Przedstawione poniżej osiągnięcie naukowe mieści się w kategorii badań podstawowych. W ramach osiągnięcia przedstawia się zarówno kilka nowych dla nauki gatunków grzybów jak i odkrycia dotyczące charakteru ich relacji z bezkręgowcami. Metody filogenetyczne zastosowane w pracy oraz badania eksperymentalne umożliwiły przejście od filogenetyki molekularnej do zagadnień ekologicznych, w tym do sformułowania szeregu nowych hipotez i propozycji metodologicznych. Wszystkie prace powstałe w ramach osiągnięcia naukowego oraz stanowiące pozostały dorobek naukowy są pracami wieloautorskimi, stąd w tekście konsekwentnie zastosowano formę pierwszej osoby liczby mnogiej, z wyjątkiem hipotez, za które autor niniejszego autoreferatu ponosi całkowitą odpowiedzialność. Nietypową cechą przedstawionego dorobku jest całkowity brak prac z promotorami lub starszymi pracownikami rodzimego Zakładu, a za to bardzo liczne publikacje z młodszymi współpracownikami i studentami. Szczególnie chciałabym podkreślić rolę dr Julii Pawłowskiej, która jest pierwszym autorem licznych prac wchodzących w skład dorobku.

Osiągnięcie naukowe obejmuje prace dotyczące interakcji grzybów oraz bezkręgowców należących do monofiletycznego kładu wylinkowców (Ecdysozoa). Liczne prace molekularne wskazują, że zwierzęta prowadzące lądowy lub wodny tryb życia, charakteryzujące się cyklicznym odrzucaniem kutyki (linieniem), a należące do tak szeroko rozpowszechnionych grup jak owady, nicienie, pajęczaki czy skrytoszczękie są ze sobą blisko spokrewnione (Aguinaldo i wsp., 1997, Blair i wsp., 2002, Dunn i wsp., 2008). Wylinkowce są związane zależnościami ekologicznymi z licznymi grzybami lądowymi z kilku niezależnych grup taksonomicznych. Wśród nich dominują grzyby z grupy Entomophthorales (Gryganskyi i wsp., 2013) oraz Hypocreales (Blackwell, 2010), a związki te są antagonistyczne. W ostatnich latach



systematyka grzybów z grupy Hypocreales była poddana krytycznym analizom, co zaowocowało utworzeniem licznych, nowych rodzin i rodzajów (Sung i wsp., 2007). Również dla owadomorkowców zaproponowano nowe ujęcie klasyfikacyjne (Humber, 2012). Ciągłym otwartym problemem jest identyfikacja form płciowych i bezpłciowych dla konkretnych przedstawicieli rzędu Hypocreales oraz zaproponowanie dla nich spójnej systematyki wg koncepcji *One fungus – one name* (Taylor, 2011). Grzyby te bowiem albo tworzą owocniki i zarodniki typu mejospor (teleomorfa), albo pozostają w formie pleśniowej wykształcając tylko mitosporę (anamorfa). Rzadko udaje się uzyskać obie morfy grzyba. Badania obrazujące genetyczną tożsamość form są zatem nie tylko cenne, ale i konieczne.

Bardzo niewiele wiadomo o powiązaniach wylinkowców z grupami grzybów, które nie są postrzegane jako wyspecjalizowane patogeny, np. z grzybami rzędu z Trichosporonales. Niewiele wiemy również o wpływie drożdżaków na biologię tych zwierząt. Nieliczne prace na ten temat są publikowane o ostatnich latach (Vega i Dowd, 2005; Suh i Blackwell, 2005; Górz i Boroń, 2016). Jak dotąd nikt nie zwrócił uwagi na możliwość interakcji między grzybami znanymi dotychczas jako pleśniakowe, glebowe saprotrofy a bezkręgowcami. Saprotrofizm oraz sposób uzyskiwania pokarmu przez grzyby nie implikuje jednoznacznie braku interakcji ze zwierzętami żyjącymi w tym samym środowisku, co więcej wydaje się że grzyby jako wyspecjalizowani reducenty mogą być partnerami dla organizmów o nie zrównoważonej diecie. Jedynymi dobrze poznanymi zależnościami mutualistycznymi między grzybami a wylinkowcami są interakcje owadów społecznych (np. Macrotermitinae, Attine) i hodowanych przez nie grzybów.

Prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:

- POGŁĘBIAJĄ WIEDZĘ O ZALEŻNOŚCIACH ANAMORFA-TELEOMORFA W RAMACH RZĘDU HYPOCREALES,
- WSKAZUJĄ NA OBECNOŚĆ GRZYBÓW NA RZADZIEJ BADANYCH BEZKRĘGOWCACH TAKICH JAK ROZTOCZE CZY NICIENIE,
- PO RAZ PIERWSZY OPISUJĄ RELACJE GRZYBÓW Z RZĘDÓW TRICHOSPORONALES I MORTIERELLALES Z MRÓWKAMI ŻYJĄCYMI W NASZYCH SZEROKOŚCIACH GEOGRAFICZNYCH,
- DOSTARCZAJĄ ARGUMENTÓW, BY UZNAĆ ZALEŻNOŚCI MRÓWEK Z GRZYBAMI Z RZĘDU MORTIERELLALES ZA INTERAKCJE TYPU MUTUALISTYCZNEGO
- WYKAZUJĄ, ŻE GRZYBY Z RODZAJU *Aegeritella* W HODOWLI *IN VITRO* WPŁYWAJĄ DESTRUKCYJNIE NA STAN KOLONII MRÓWEK.

W kolejnych podrozdziałach autoreferatu (4A-4F) szerzej przedstawiono informacje o konkretnych osiągnięciach, a w punkcie 4.G przedstawiono hipotezy, które można wysnuć w oparciu o uzyskane wyniki badań. Punkt 4.H prezentuje cztery (z siedmiu opisanych przez nasz zespół) nowe dla nauki gatunki grzybów owadobójczych, które włączono do osiągnięcia. Ostatni podpunkt osiągnięcia (4.I) akcentuje konieczność zmiany perspektywy w badaniach interakcji międzygatunkowych i jest streszczeniem wniosków zawartych w przeglądowej i koncepcyjnej pracy opublikowanej w *Mycological Progress* (4.4).



4.A ZAPROPONOWANO ROZWIĄZANIA TAKSONOMICZNE I WYJAŚNIONO POZYCJĘ FILOGENETYCZNĄ WIELU GATUNKÓW GRZYBÓW (ART. 4.1;4.3;4.5;4,6).

Badania grzybów znajdujących w naturze (na terenie Polski i innych krajów europejskich) oraz pochodzących z kolekcji kultur Uniwersytetu Przyrodniczo-Humanistycznego w Siedlcach, pozwoliły określić pozycję filogenetyczną wielu taksonów grzybów znajdujących na wylinkowcach. W artykule 4.1 zagadnieniem przewodnim było ustalenie przynależności taksonomicznej szeregu szczepów izolowanych z roztoczy. Większość badanych gatunków została zaklasyfikowana do rzędu Hypocreales. Do tej samej grupy należy również grzyb owadobójczy omówiony w artykule (4.5). Bezpośrednią przyczyną podjęcia prac badawczych była izolacja rzadkiego w Europie gatunku *Hirsutella minnesotensis* z fitofagicznego roztocza. Grzyb ten opisywany był dotychczas jedynie na nicieniach. Po raz pierwszy zaobserwowano tym samym możliwość transferu grzyba należącego do rodzaju *Hirsutella* z nicienia na stawonoga. Gatunek *H. minnesotensis* został opisany przez Chen i wsp. (2000) z mątwika sojowego (Nematoda) w stanie Minnesota w USA. Nicień ten, atakujący korzenie roślin, a w szczególności soi, jest uznawany za szkodnika zdolnego do istotnego uszczuplenia plonów tej rośliny. Badania grzyba będącego pasożytem obligatoryjnym zwierząt patogenicznych dla roślin mogą w przyszłości zostać wykorzystane do biologicznej ochrony roślin uprawnych. Jak stwierdzili Stewart i wsp. (2010), wydaje się, że do najlepszych środków ochrony upraw przed nicieniami należą dwa obligatoryjne pasożyty nicieni – *H. minnesotensis* oraz *H. rossiliensis*. Niniejsza praca wykazała jednak, że podczas gdy *H. rossiliensis* rzeczywiście izolowana jest wyłącznie z nicieni, to *H. minnesotensis* ma szersze spektrum żywicieli. Co więcej, oznacza to, że zarówno nicienie, jak i roztocze mogą być wektorami przenoszącymi tego pasożyta. Zjawisko to ostatecznie może sprzyjać produkcji roślinnej w sytuacji bardzo znacznych wahań wielkości populacji nicieni w glebie (Stewart i wsp., 2010). Roztocze mogą stanowić stały rezerwuar stadiów infekcyjnych grzyba w sytuacji nagłej gradacji szkodnika.

Wyniki przeprowadzonych badań molekularnych wykazały, że grzyby z rodzaju *Hirsutella* znane jako pasożyty nicieni nie są ze sobą blisko spokrewnione. Najbliższym *H. minnesotensis* taksonem jest kosmopolityczny, akaropatogeniczny gatunek *H. thompsonii*. Świadczy to prawdopodobnie o tym, że nawet jeśli pierwotnymi żywicielami grzybów z rodzaju *Hirsutella* były nicienie (ze względu na ewolucyjną pierwotność w stosunku do innych żywicieli) (Kethley i wsp., 1989; la Fuente, 2003; Baliński i wsp., 2013), to wielokrotnie, w różnych liniach filogenetycznych nicieniobójcze grzyby zmieniały żywicieli na inne bezkręgowce z kladu Ecdysozoa. Odwrotną hipotezę przyjmują Lai i wsp. (2014) również uważając dalekie pokrewieństwo *H. rossiliensis* i *H. minnesotensis*. Uważają oni, że grzyby z rodzaju *Hirsutella* wykazują przystosowania do pasożytowania na roztoczach, a zdolność do pasożytowania na nicieniach pojawiła się stosunkowo niedawno. Co ciekawe, sekwencje regionu ITS rDNA wszystkich szczepów *H. minnesotensis* – izolowanych w ramach badań oraz pozyskanych z GenBanku, zarówno pasożytujących na stawonogach jak i na nicieniach, okazały się niemal identyczne. Kontrastuje to z wynikami analizy sekwencji ITS rDNA *H. thompsonii*, która jest znana jako wyłączny patogen roztoczy. Ten grzyb wykazuje znacznie większą zmienność. Różnice w wewnątrzgatunkowej zmienności genetycznej między siostrzanymi gatunkami mogą wynikać z różnych przyczyn: ze stosunkowo niedawnego zaadaptowania się grzyba z gatunku *H. minnesotensis* do nowego żywiciela lub z racji jego niedawnej dyspersji



na inne kontynenty wraz ze wzrastającym handlem soją, zbyt krótkim czasem ewolucyjnym, ew. efektem założyciela. Niska zmienność jest dodatkowo utrzymywana przez brak przepływu genów w ramach rozmnażania płciowego. Jeśli rzeczywiście, zgodnie z dotychczasowymi obserwacjami, nie notuje się u tego gatunku procesów seksualnych, to podstawowym źródłem zmienności pozostają mutacje (lub horyzontalny transfer genów), a nie rekombinacja i mejoza. Z kolei większa zmienność genetyczna *H. thompsonii* (również przy braku rozmnażania płciowego) może wynikać ze specjalizacji względem różnych gatunków roztoczy i długiego okresu koewolucji z przedstawicielami Acarina. Należy zaznaczyć, że choć opis *H. minnesotensis* pochodzi ze Stanów Zjednoczonych, to soja pochodzi z Południowo-Wschodnich Chin i grzyb ten jest w Azji pospolity. Trudno wyrokować obecnie, czy patogen ma pochodzenie amerykańskie czy azjatyckie, choć bardzo szybki wzrost zainteresowania tym taksonem (obecnie ponad 1400 sekwencji w GB) prawdopodobnie wkrótce umożliwi przeprowadzenie badań biogeograficznych. Bardzo interesującym zagadnieniem podejmowanym przez nasz zespół (publikacja w przygotowaniu) i znanym z literatury (por. Rehner i wsp., 2011) jest zmienność wewnątrzgatunkowa innego grzyba z rzędu Hypocreales znanego jako pasożyt owadów – *Beauveria bassiana*. Grzyb ten wykazuje wyraźną wewnątrzgatunkową zmienność odzwierciedlającą pochodzenie geograficzne, przy czym rozmnaża się płciowo. Jego płciowe formy są zaliczane do rodzaju *Cordyceps* (Rehner i wsp., 2011). Z tego względu w obrębie rodzaju *Beauveria* szybciej wzrasta zmienność – ponieważ jej źródłem są nie tylko mutacje, ale również rekombinacja i niezależna segregacja alleli. Przy rosnącej liczbie sekwencji charakteryzujących różne szczepy *H. minnesotensis* – podobna analiza będzie wkrótce możliwa.

W trakcie badań zidentyfikowano, poza wyżej wymienionymi, grzyby należące do gatunków *H. rostrata*, *H. gregis*, *H. nodulosa*, *H. aphidis* i *H. kirchnerii*. Przeprowadzone przez nas badania molekularne wskazują na bliskie pokrewieństwo dla par – *H. gregis*-*H. kirchnerii* oraz *H. nodulosa*-*H. aphidis*. Para *H. nodulosa* i *H. aphidis* to grzyby bytujące na innych żywicielach – ale żyjących w tym samym mikrosiedlisku (na liściach). Świadczy to prawdopodobnie o specjacji sympatrycznej. Co ciekawe, specjacja może wiązać się z ograniczeniem rozmnażania płciowego szczepów, które przystosowały się do pasożytowania na roztoczach (patrz Punkt 4.G.2). Ta obserwacja rzuca światło na zjawisko tworzenia się nowych gatunków grzybów z rzędu Hypocreales – tym bardziej, że rząd ten jest znany jako takson grupujący grzyby wyjątkowo zróżnicowane pod względem biologii. Są wśród nich pasożyty grzybów, zwierząt i roślin, endofity oraz saprotrofy. Tym samym, zgodnie z zestawieniem przygotowanym przez de Vienne i wsp. (2013) należy uznać mechanizm przeskoku na innego żywiciela (host shift) jako podstawowy mechanizm specjacji w tej grupie.

Kolejnym grzybem, dla którego ustalono pozycję systematyczną, jest *Aegeritella tuberculata* (art. 4.3). Gatunek ten opisany w 1983 przez polskich naukowców (Bałazy i Wiśniewski, 1983) był wielokrotnie notowany na różnych gatunkach mrówek – zarówno z rodzaju *Lasius* jak i *Formica* (Espadaler i Santamaria, 2012). Aż do 2016 roku, nie udało się go wyhodować *in vitro* oraz przeprowadzić analiz molekularnych, by rozpoznać jego przynależność do taksonu wyższego rzędu; grzyb ten pozostawał znany jako gatunek *incertae sedis*. W ramach omawianych badań udało się pozyskać plechy z mrówek *Lasius niger* pochodzących z Beskidu Żywickiego. *Aegeritella tuberculata* została morfologicznie przebadana i opisana. Otrzymano jej hodowle na podłożach sztucznych oraz przeprowadzono analizę genetyczną zarówno z plech pozyskanych bezpośrednio z kutykuli owada, jak również ze szczepów hodowlanych. Badania molekularne bazujące na uniwersalnym kodzie kreskowym grzybów obejmującym region ITS rDNA (Schoch i wsp., 2012) i potwierdzone przez sekwencje genów kodujących małą i dużą



podjednostkę rRNA (18S rDNA, 26S rDNA) przeprowadzone przez nasz zespół wykazały, że należy on do podstawczaków. Wyznaczono także pełną taksonomiczną przynależność *Aegeritella* do: Dikarya; Basidiomycota; Agaricomycotina; Tremellomycetes; Trichosporonales; Trichosporonaceae. Tak więc patogen mrówek okazał się spokrewniony z grzybami z rodzaju *Cryptococcus* oraz *Trichosporon*. Oba rodzaje są opisywane jako patogeny zwierząt kręgowych – w tym również zewnętrzne i wewnętrzne pasożyty człowieka. *Trichosporon* jest odpowiedzialny na wystąpienie u człowieka objawów zewnętrznego zakażenia włosów znanego jako biała piedra (*Tinea blanca*). Zjawisko to może być wywołane przez szereg gatunków: *T. asahii*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. ovoides* oraz *T. mucoides*. Grzyby te, niezbyt groźne dla zdrowia i życia żywicieli, są rozpowszechnione na całym świecie. Wydaje się, że występowanie zakażenia nie jest związane z brakiem higieny czy spadkiem odporności (Roshan i wsp., 2009). Autorzy powyższej publikacji wskazują na wyjątkowy przypadek zakażenia rodzinnego i wykazują szczególne okoliczności, które mogły doprowadzić do transmisji horyzontalnej. Zasadniczo uważa się bowiem, że grzyby z rodzaju *Trichosporon* nie przenoszą się poprzez kontakty międzyludzkie. Kontrastuje to z opisanym przez nas przypadkiem *Aegeritella* na *Lasius niger* (rozwińcie temat w punkcie 4.D). Chińscy badacze dowiedli ostatnio, że *A. tuberculata* występuje na futrze pandy olbrzymiej (*Ailuropoda melanoleuca*) (numer akcesji GenBank KX302084, Xiang i wsp., 2017, nieopublikowane), co świadczy o tym, że rodzaj *Aegeritella* prawdopodobnie nie jest związany wyłącznie z mrówkami jako żywicielami. Jak dotąd nie rozwikłano ostatecznie zależności taksonomicznych w rodzinie Trichosporonaceae. Rodzaje *Trichosporon* i *Cryptococcus* nie są monofiletyczne, a rodzaj *Aegeritella* niedostatecznie opracowany genetycznie, by móc przeprowadzić pełną rewizję tych rodzajów, mimo to wstępne propozycje można znaleźć w kilku pracach (Liu i wsp., 2015, Liu i wsp., 2016). Liu i wsp. (2016), nie mając wiedzy o pozycji taksonomicznej *Aegeritella*, proponują dla kladu zawierającego ten rodzaj nową nazwę *Cutaneotrichosporon*. Wydaje się jednak, że nazwa *Aegeritella*, jako starsza, zostanie zachowana i będzie to rodzaj zawierający następujące gatunki: *Trichosporon guehoae*, *Cryptococcus curvatus*, *C. cyanovorans*, *C. daszewskae* (Liu i wsp., 2016) oraz *Aegeritella tuberculata*. Prawdopodobnie dołączą do tego kladu również inne gatunki *Aegeritella*, które nie doczekały się jeszcze analiz genetycznych. Obecnie poznanie zmienności genetycznej w ramach rodzaju *Aegeritella*, opracowanie molekularne gatunku typowego (*Aegeritella superficialis*) oraz badania powiązań tych grzybów z żywicielami są kluczowe.

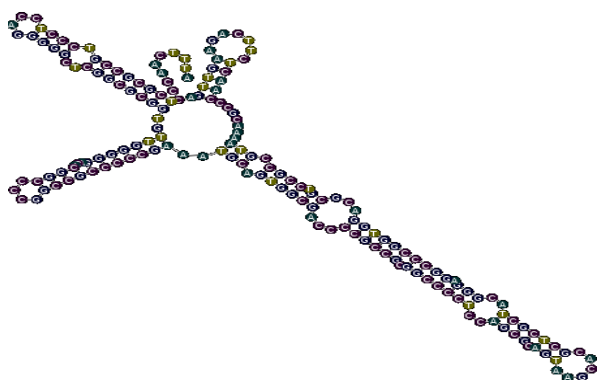
Badania prowadzone przez Górza i Boronia (2016) wykazały infekcję pokryw skrzydłowych chrząszczy przez *Trichosporon lactis*. Gatunek ten, mimo zewnętrznego podobieństwa do *Aegeritella*, lokuje się w innym kladzie (*Trichosporon s. stricto*) w ramach tej samej rodziny. Świadczy to, że zakażenia owadów przez podstawczakowe drożdżaki pojawiają się niezależnie w ramach rodziny Trichosporonaceae i prawdopodobnie są częste. W ramach badań naszego zespołu (Tischer et al., 2015; Aneks 8 poster nr 5.4A) opisaliśmy obecność grzybów z rodzaju *Trichosporon* sp. na pokrywach skrzydłowych chrząszcza z bursztynu bałtyckiego, sprzed 40-50 mln lat (artykuł na podstawie pracy magisterskiej jest obecnie w przygotowaniu). Tym samym uzyskujemy dane pozwalające na kalibrację zegara molekularnego dla rodziny Trichosporonaceae.

Dane o kolejnych ustaleniach taksonomicznych wykonanych w ramach prac (4.5; 4.6) zostaną omówione w punkcie 4.H zawierającym nowe dla nauki gatunki opisane w ramach osiągnięcia naukowego.



4.B. WYZNACZONO SEKWENCJĘ CHARAKTERYSTYCZNĄ DLA *HIRSUTELLA MINNESOTENSIS* (ART. 4.1)

H. minnesotensis, jak wcześniej wspomniano, jest organizmem istotnym z punktu widzenia gospodarki rolnej. Monitoring jego występowania jest zatem ważnym wyzwaniem. W celu ułatwienia identyfikacji w ramach pracy 4.2 zaproponowałam krótką sekwencję charakterystyczną, lokującą się w ramach sekwencji ITS2. Poniżej (rys.1) przedstawiono strukturę drugorzędową ITS2 rDNA. Sekwencja charakterystyczna (wskazana strzałką) obejmuje pętlę drugą. Metody do utworzenia struktury drugorzędowej dla zsekwencjonowanego fragmentu ITS zostały zaadaptowane z publikacji wykazanej w podrozdziale 5. (Aneks 8, art. 5.24).



Rys. 1. Struktura drugorzędowa ITS2 rDNA. Strzałką wskazano pętlę drugą, której sekwencja jest charakterystyczna wyłącznie dla gatunku *H. minnesotensis*. Schemat oryginalny (J.Pawłowska) przygotowany poprzez zaadaptowanie metody opisanej w pracy 5.24.

4.C. OKREŚLONO WIRULENCJĘ WYBRANYCH GRZYBÓW WZGLĘDEM RÓŻNYCH ŻYWCIELI NALEŻĄCYCH DO WYLINKOWCÓW (ART.4.2)

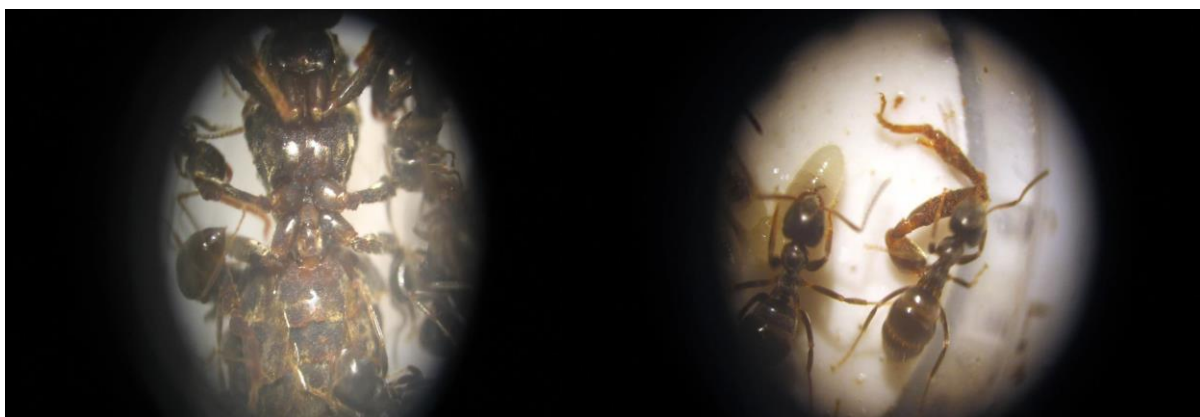
Artykuł 4.2 przedstawia wnioski płynące z badania wirulencji wybranych gatunków grzybów znanych jako patogeny roztoczy względem żywicieli należących do innych grup taksonomicznych wylinkowców. Testowano cztery gatunki grzybów izolowanych z roztoczy. Były to: *H. nodulosa*, *H. minnesotensis*, *H. rostrata* oraz *H. kirchnerii*. Tylko jeden z testowanych gatunków był znany wcześniej jako pasożyt nicieni (punkt 4. A i B). *H. kirchnerii* jest grzybem uznawanym głównie za czynnik ograniczający występowanie przędziorka chmielowca *Tetranychus urticae*. *H. nodulosa* najczęściej bywa izolowana z różkowców *Eriophyes* spp., choć spotykana jest, choć rzadziej, również na owadach. *H. rostrata* natomiast bywa izolowana z drapieżnych roztoczy podkorowych. Zawiesinę zarodników w stężeniu (104-106 zarodników/ml) aplikowano na oskórek potencjalnych żywicieli: larwy ogłodka *Scolytus* sp., larwy ćmy - owocówki jabłkówekczki *Cydia pomonella*, oraz nicieni – guzaka korzeniowego *Meloidogyne hapla*, mątwika ziemniaczanego *Globodera rostochiensis* i mątwika burakowego *Heterodera schachtii*. Testowane grzyby z rodzaju *Hirsutella* w większości nie okazały się oportunistami i nie infekowały owadów. Pozytywny efekt w postaci porażenia larw *Cydia pomonella* (20%) wystąpił tylko w przypadku jednego z pięciu testowanych gatunków grzybów – *H. nodulosa*. Nie można wykluczyć, że w warunkach *in vitro* nie



potrafimy odtworzyć warunków potrzebnych do naturalnego zakażenia owadów. Przeprowadzone testy wskazują jednak, że testowane grzyby nie mają potencjału biotechnologicznego przeciwko owadzim szkodnikom leśnym i sadowniczym. Nie wydaje się, aby *H. nodulosa* miała większy wpływ na populację owocówki jabłkowieczki niż wirus CpGV, wykorzystywany jako bioinsektycyd (Pultar i wsp., 2000). Pojedyncze obserwacje wskazują, że larwy chrząszczy z rodziny Ciidae mogą zakażać się grzybem *H. rostrata* obecnym na towarzyszących roztoczach w galeriach podkorowych, jednak w warunkach *in vitro* nie uzyskano tego efektu w stosunku do larw chrząszcza ogłodka. Testowane grzyby z rodzaju *Hirsutiella* nie wykazały też infekcyjności względem nicieni. Bardzo słaby pozytywny efekt w postaci porażenia jaj nicieni (2,8%) osiągnięto w wariantcie *H. minnesotensis* z nicieniem powodującym galasowatość korzeni (*M. hapla*). Wydaje się, że *H. minnesotensis* jest grzybem wyspecjalizowanym w porażaniu nicienia sojowego *Heterodera glycines*, co wykazali wcześniej Ma i in. (2005) oraz Liu i Chen (2005). Liu i Chen (2001) przedstawili jednak dowody wskazujące na infekcyjność *H. minnesotensis* wobec przedstawicieli 15 różnych gatunków nicieni – w tym również *M. hapla*. Inwazyjność została potwierdzona przez nasz zespół, choć efektywność zakażenia była niewielka. Nie można wykluczyć, że do zakażenia może dojść tylko na określonym etapie rozwoju nicieni, co sugeruje Sun i wsp. (2015). W przypadku opisaney infekcji guzaka korzeni do zakażenia doszło wyłącznie w stadium jaja.

4.D. PO RAZ PIERWSZY WYKAZANO PATOGENNOŚĆ *AEGERITELLA TUBERCULATA* WOBEC MRÓWEK (ART. 4.3).

Praca 4.3 została zrealizowana w oparciu o obserwacje terenowe, hodowlę *in vitro* mrówek z rodzaju *Lasius niger* i badania molekularne. Dotychczas nie było pewności czy grzyby z rodzaju *Aegeritella* wpływają jednoznacznie negatywnie na populację mrówek. W ramach bieżących badań zaobserwowaliśmy nie tylko, że mrówki nie przejawiają bardziej intensywnych zachowań czyszczenia powłok ciała, ale również, że nie usuwają grzyba z ciała królowej. Wykazano, że zdrowe mrówki wprowadzone z zewnątrz do zainfekowanej kolonii *Lasius niger* podlegają infekcji. W czasie prowadzonych badań królowa została porażona w stopniu uniemożliwiającym karmienie. W konsekwencji zaobserwowano śmierć królowej i proces podziału ciała przez robotnice. Zainfekowane grzybem fragmenty ciała zostały przeniesione do komór larwalnych jako pokarm dla stadium młodocianego. Opisane zjawisko ilustrują poniższe zdjęcia (fot.1 i fot.2)



Fot. 1. Ciało zmarłej królowej w trakcie podziału przez robotnice (widoczne ciemnobrązowe kolonie *Aegeritella tuberculata*) (fot. G.Dubiel).

Fot.2. Przenoszenie zainfekowanych grzybem fragmentów ciała królowej do komór larwalnych (fot. G.Dubiel).



4.E. OPISANO ZMIANĘ ŻYWCIELA W PRZYPADKU *H. ROSTRATA* I *H. MINNESOTENSIS* ZACHODZĄCĄ W ŚRODOWISKU NATURALNYM (ART. 4.1).

Hirsutella rostrata jest grzybem izolowanym z roztoczy podkorowych, często z rodzaju *Dendrolaelaps*. W ramach lustracji galerii owadów podkorowych w środowisku naturalnym, wykazano obecność grzybni na martwej larwie owada z rodziny Ciidae (czerwikowatych) oraz stadia przetrwalne i zarodnikowanie na roztoczach (art. 4.2, fig 2). Wyjątkowo rzadkie są obserwacje obecności grzybów z rodzaju *Hirsutella* na skrytoszczękich (Entognatha), które prawdopodobnie charakteryzują się jakąś formą odporności (Broza i wsp., 2001, Xiang i wsp., 2007). Kurihara i wsp. (2009) opisali jednak gatunek *Hirsutella proturicola* z pierwogonka *Baculentulus densus*, zaznaczając jego podobieństwo morfologiczne i molekularne do *H. rostrata*. Kolejnym, zidentyfikowanym przez nasz zespół, żywicielem dla tego grzyba był przedstawiciel roztoczy foretycznych należący do Trachyuropoda, znaleziony w mrowisku mrówki ćmawej *Formica polyctena*. Zespół żywicieli wyraźnie wskazuje na to, że *H. rostrata* jest gatunkiem typowo leśnym, a, co ciekawe, jego filogenetyczna pozycja jest wyraźnie izolowana.

Nasz zespół wykazał występowanie *H. minnesotensis* na roztoczach, co jest rzadkim zjawiskiem. Warto zwrócić uwagę na przystosowania tego grzyba do zakażenia wylinkowców żyjących poza otwartą przestrzenią tj. w obszarach pomiędzy kolejnymi warstwami ściółki lub galeriach podkorowych (fig 1, art. 4.2). Jedną z cech różniących rodzaj *Hirsutella* od innych rodzajów grzybów pleśniowych, również tych blisko spokrewnionych, jest wyjątkowo skąpe zarodnikowanie. Grzybnia wegetatywna całkowicie wypełnia ciało żywiciela, natomiast na zewnątrz zmumifowanego roztocza wysuwane są wyłącznie pojedyncze strzępki o średnicy kilku mikronów, ale ciągnące się nawet na długość kilka tysięcy razy przewyższającą długość ciała pajęczaka. Na strzępkach tych, bocznie, na krótkich sztydłowatych fialidach wytwarzane są pojedyncze zarodniki w lepkiej kropli. W sytuacji ograniczonej przestrzeni zakażenia nawet pojedyncze diaspory stanowią skuteczne stadium infekcyjne w stosunku do organizmów wrażliwych. Sukces rozprzestrzenienia jest za to związany z precyzyjnym umieszczeniem lepkiego zarodnika na ciele wylinkowca i na zdolności do enzymatycznego pokonania kutikuli. Warto podkreślić różnice w budowie kutikuli nicieni i roztocy. W przypadku nicieni składa się z pozakomórkowego matrix złożonego z cząsteczek białka zbliżonego do kolagenu połączonego w gęstą sieć (Johnstone, 1994), a w przypadku roztocy jest zbudowana z chityny, lecz często wysycona związkami typu wosków lub zmineralizowana (Peschel i wsp., 2006). Wydaje się, że w przypadku grzybów mających zdolność do korzystania z tak zróżnicowanych żywicieli niezbędne jest do przeprowadzenia efektywnej infekcji wzbogacenie repertuaru genetycznego o geny związane z degradacją związków egzoszkieletu żywiciela. Badania nakierowane na poszukiwanie tych genów u grzybów z rodzaju *Hirsutella* może umożliwić rozpoznanie żywicieli pierwotnych (sprawdzenie obecności genów kodujących chitynazy i kolagenazy). Warto podkreślić, że wybiórczy proces infekowania wylinkowców może w rezultacie mieć podstawowe znaczenie w sytuacji konkurencji o pokarm różnych grup bezkręgowców należących do jednej gildii.

4.F. WYZNACZONO ZESPÓŁ PATOGENÓW ROZTOCZY, IZOLOWANYCH W POLSCE I EUROPIE

Praca 4.1 podsumowuje dane zebrane przez zespół autorski dotyczące występowania grzybów na roztoczach w Polsce i innych krajach europejskich. W przypadku roztocy, ich ważnymi antagoni-



stami są grzyby z rzędów Entomophthorales, Neozygiales oraz Hypocreales. Inne grzyby nie były przez zespół zaobserwowane – mimo prawdopodobnej obecności mikrosporidiów i grzybów z rzędu Laboulbeniales. Badania dotyczyły tylko grzybów, które tworzą widoczne struktury strzępkowe i doprowadzają do śmierci żywiciela. Spośród przedstawicieli owadomorkowych Entomophthoromycotina, na roztoczach spotyka się wyłącznie grzyby uznawane za przedstawicieli starych ewolucyjnie linii. Grzyby z rodzaju *Conidiobolus*, które stanowią bazalną grupę owadomorkowców, są znane jako fakultatywne pasożyty atakujące różne bezkręgowce oraz kręgowce (w tym człowieka), a także żyjące w glebie jako organizmy saprotroficzne. Warte odnotowania jest występowanie na roztoczach dwóch gatunków z rodzaju *Neozygites*. Ten nietypowy rodzaj jest wyjątkowo różny od pozostałych owadomorkowych. W swoim genomie ma tak liczne cechy apomorficzne, że nie ma pewności czy nie tworzy raczej siostrzanego taksonu do Entomophthoromycotina, a nie linii w jego obrębie. Niestety, z powodu braku danych o genomie, *Neozygites* nie został w pełni uwzględniony w najnowszej taksonomicznej rewizji dawnej grupy sprzężniaków (Zygomycota), bazującej na danych genomowych. Proponuje się jednak dla tych grzybów rangę niezależnej klasy (Spatafora i wsp., 2016). *Neozygites* jest grzybem atakującym wyjątkowo odporne na zakażenia skoczogonki Collembola, co również może świadczyć o jego niezależnej pozycji na drzewie życia grzybów. Wydaje się, że uzupełnienie danych molekularnych dla szczepów z rodzaju *Neozygites* jest jednym z ważnych zadań rysujących się przed filogenetykami grzybów. Oba gatunki z rodzaju *Neozygites* zostały zidentyfikowane na roztoczach naliściowych z rodzin Tetranychidae oraz Eriophyidae. Taksonem grzybów najczęściej notowanym na roztoczach jest rodzaj *Hirsutella*. Warto podkreślić, że takson ten spotykany jest na różnych wylinkowcach, wśród których dominują roztocze, co zaobserwowała również Hodge (1998). Bardzo rzadko udaje się dla tego taksonu zaobserwować formę teleomorficzną. Hipoteza o prawdopodobnej przyczynie tego stanu jest zawarta w podrozdziale 4.G.2.

4.G. Z BADAŃ UJĘTYCH W OSIĄGNIĘCIU HABILITACYJNYM WYNIKAJĄ NASTĘPUJĄCE HIPOTEZY BADAWCZE:

4.G.1. (ART. 4.1) PIERWOTNYMI ŻYWICIELAMI GRZYBÓW Z KLASY NEOZYGITOMYCETES SĄ ROZTOCZE I SKRYTOSZCZĘKIE, A OBECNOŚĆ NA OWADACH JEST CECHĄ WTÓRNĄ.

Nowych gatunków należących do tego taksonu należy szukać w środowiskach obfitujących w martwą materię organiczną pochodzenia roślinnego. Niedostateczny stan poznania grupy wynika z braku danych pochodzących ze środowisk typowych. Hipoteza, zbudowana w oparciu o badania filogenetyczne, dotyczy zakresu żywicieli grzybów z rodziny Neozygitaceae. Uważamy, że grzyby te są pierwotnie przystosowane do pasożytowania na skrytoszczękach i roztoczach, a pasożytnictwo na mszycach i przylżeńcach wynika z przeskoku patogena na bezkręgowce zajmujące tę samą niszę co roztocze naliściowe. Pell i wsp. (2001) prezentują listę żywicieli grzybów z rodzaju *Neozygites*. Są to przede wszystkim przedstawiciele roślinożernych roztoczy, w tym kilkadziesiąt potwierdzonych żywicieli z rodziny przędziorkowatych Tetranychidae, mszyce z różnych rodzajów np. *Slavum* czy *Cinara* (Retamal Montalva i wsp., 2013) oraz niektóre przylżeńce Thysanoptera (Bałazy, 1993). Zarówno mszyce, jak i przylżeńce, na których zidentyfikowano przedstawicieli *Neozygites*, należą do tej samej gildii co roztocze. Oba rzędy owadzich żywicieli należą do Paraneoptera, odżywiają się sokiem roślinnym i są znajdowane na kwiatach oraz zielonych tkankach roślin. Wśród żywicieli *Neozygites* nie ma owadów z Paleoptera ani z Endopterygota. Gąsienice motyli czy larwy chrząszczy nie są atakowane przez *Neozygites* mimo



występowania w tym samym mikrosiedlisku. Prawdopodobnie wynika to z wykształconej przez owady z pełnym przeobrażeniem formy odporności na patogena. Pell i wsp. (2001) zwracają również uwagę na drobne rozmiary żywicieli owadzich – odpowiadające wielkości roztoczy, nie komentują jednak tej obserwacji. Humber (2012) wydziela Neozygitaceae w odrębną klasę Neozygitomycetes w ramach Entomophthoromycotina bazując na różnicach cytologicznych i pracy James i współpracowników (2006), ale nie rozpatruje kwestii zakresu żywicieli. Przekonanie o tym, że Neozygitomycetes nie mają tych samych pierwotnych żywicieli co inne Entomophthoromycetes opiera się na zweryfikowanej odrębności sekwencji DNA w stosunku do innych grzybów należących do owadomorkowców. Wśród niewielu sekwencji małej podjednostki rybosomalnej 18S rDNA otrzymanych dla *Neozygitas* nie ma takich, które parowałyby się z sekwencjami owadomorkowców, choćby w stopniu umożliwiającym wiarygodne dopasowanie. Dotyczy to również tych gatunków, które są patogenami mszyc. Nie ma wątpliwości, że mszyce stały się żywicielami *Zoophthora* i *Neozygitas* niezależnie. Jesteśmy przekonani, że nowych danych o grzybach z rodzaju *Neozygitas* należy szukać w innym siedlisku niż dotychczas. Obecna nierównomierność poznania Neozygitales i Entomophthorales wynika z większego zainteresowania badaczy zwierzęcymi patogenami roślin niż saprotrofami obecnymi na szczątkach roślinnych.

4.G.2.(ART. 4.1) PROCES FORMOWANIA TELEOMORF PRZEZ GRZYBY Z RZĄDU HYPOCREALES ZALEŻY RACZEJ OD WIELKOŚCI CIAŁA ŻYWICIELI NIŻ OD ICH PRZYNALEŻNOŚCI TAKSONOMICZNEJ

Praca 4.1 ukazuje ciekawą zależność. Drzewo filogenetyczne utworzone dla anamorficznych grzybów z rodzaju *Hirsutella* i ich stadiów płciowych zwanych teleomorfami pozwala wykazać, że linie filogenetyczne obejmujące grzyby związane obligatoryjnie wyłącznie z nicieniami i roztoczami nie mają znanych postaci owocnikowych. W linii filogenetycznej prowadzącej do *H. nodulosa* wykazano istnienie form płciowych - *Ophiocordyceps cf. acicularis* oraz *O. cochliidiicola*. Wykazują one 99% zgodności w sekwencji genu 28S rDNA, a 96% zgodności w genie ITS z *Hirsutella nodulosa*. *H. nodulosa* należy do gatunków znajdujących na powierzchni liści na różnych żywicielach – zwłaszcza na roztoczach oraz mszycach. Wykazaliśmy jednak występowanie tego grzyba na przedstawicielach *Lepidoptera*. Podobieństwo sekwencji form płciowych wobec innych anamorf z rodzaju *Hirsutella* – tych, które znane są tylko z roztoczy, jest zadziwiająco niskie. Jeden z najbardziej typowych grzybów na roztoczach - *Hirsutella thompsonii* wykazuje już tylko podobieństwo rzędu 83% zgodności w genie ITS rDNA z najbliższym teleomorficznym taksonem *Ophiocordyceps cochliidiicola*. Nie ma znanej formy płciowej również dla *H. minnesotensis*, która jak wykazano w punkcie 4.C i 4.D, jest pasożytem nicieni, oraz, sporadycznie, również roztoczy. Wydaje się, że oba gatunki utraciły zdolność do rozmnażania płciowego. Stawiam hipotezę, że wielkość gospodarza jest istotna dla tworzenia się formy płciowej – bardzo drobny żywiciel stanowi zbyt skąpą rezerwę pokarmową dla formy płciowej grzyba. Nie wydaje się, by brak form rozmnażania płciowego był związany z konkretnym typem wylinkowców, znane są bowiem grzyby *Ophiocordyceps* oraz *Torrubiella* pasożytujące na dużych pajęczakach – kosarzach (Opilionidae) np. *Torrubiella pulvinata* (Mains 1948). Mimo iż Cokendolpher (1993) uważa oznaczenie Mainsa za niepewne, to obecność tych grzybów na niewielkich pajęczakach jest powszechnie znana (Johnson i wsp., 2009). Nieznane są natomiast formy płciowe grzybów patogennych dla drobnych roztoczy oraz nicieni. Co ciekawe, rodzaj *Hirsutella* znajdujący jest stosunkowo często na roztoczach z rodziny *Eriophyidae*, do której należą gatunki takie jak *Eriophyes tiliae*. Charakterystyczne dla licznych roztoczy z tej rodziny jest tworzenie galasów - stąd ich polska nazwa „szpeciele”. W galasach, które są różnej wielkości i rodzaju, żyje zaw-



sze niewielka subpopulacja organizmów – która jest izolowana od subpopulacji sąsiednich. Przy masowych porażeniach roślin szpecielami mogłoby się wydawać, że grzyb powinien wytwarzać stadium płciowe tworząc grzybnię korzystającą z rezerw pokarmowych zmagazynowanych w postaci materii organicznej pochodzącej z grupy osobników żywicielskich. Nasze badania wskazują jednak na to, że grzybnia *Hirsutella* nie ma zdolności szybkiego wzrostu, a na pożywkach rośnie powoli tworząc skórzałą i niewielką rozmiarowo grzybnię substratową. Tworzenie galasów przez roztocze można uznać za cechę nie tylko chroniącą wylinkowce przed drapieżnikami, ale również uniemożliwiającą powstawanie form płciowych grzybowych patogenów. Wybijane tkanki roślinne okrywające roztocze, uniemożliwiają rozrastanie się grzybni i nie zapewniają grzybowi dostatecznej rezerwy pokarmowej do utworzenia struktur płciowych, a także ograniczają możliwość spotkania się różnych typów płciowych oraz fizycznie uniemożliwiają tworzenie owocników. Do najmniejszych owadów będących żywicielami form płciowych Hypocreales można zaliczyć mrówki, cykadki oraz ćmy z rodziny koszykarek Psychidae (art.4.6).

4.G.3. (ART. 4.5) GRZYBY Z SEKCJI LIGNICOLA RODZAJU GŁODÓWKA (*MORTIERELLA*) SĄ ZNACZNIE CZĘŚCIEJ NIŻ INNE GŁODÓWKI IZOLOWANE Z OWADÓW Z RODZINY FORMICIDAE. RELACJA MRÓWEK I GRZYBÓW MA CHARAKTER NIEANTAGONISTYCZNY.

W toku badań nad grzybami związanymi z mrówkami z rodzaju *Formica* wyizolowano nowy gatunek grzybów należący do rodzaju *Mortierella*, który został opisany jako *M. formicae* Siedlecki (art. 4.5; podrozdział 4.1). Drzewo filogenetyczne zbudowane w oparciu o dane zawarte w pracy Wagner i wsp. (2013), uzupełnione o sekwencje uzyskane z nowego izolatu, wykazały, że ta i wiele grzybów z rodzaju *Mortierella* lokuje się w grupie *lignicola*. Co ciekawe, izoluje się je właśnie bardzo często z mrówek z rodzaju *Formica* lub *Camponotus* (art. 4.5, ryc. 165 i 166). Co więcej, grzyby wykorzystane do badań przez Wagner, pochodzące z kolekcji CBS (Utrecht) i oznaczone jako należące do „kladu *M. lignicola*” często były pozyskiwane z kieszonek gębowych mrówek. Dodatkowe badania, które przeprowadziłam w ostatnim sezonie, wykazały, że kolonie grzybów z rodzaju *Mortierella formicae* uzyskuje się wyłącznie z rejonu głowowego u świeżo pozyskanych z terenu osobników. Mrówki przetrzymane w laboratorium przez miesiąc i dokarmiane tylko miodem przestawały być źródłem nowych kolonii grzybowych. Przesłanką do uznania grzybów za cenne pokarmowo dla mrówek jest ich nietypowa morfologia, która wydaje się analogiczna do „ciałek Belta” tworzonych przez akacje (*Acacia* spp.) pozostające z mrówkami w relacji symbiotycznej. Grzyby te nie tworzą form płciowych ani zarodników bezpłciowych (mitospor), ale obfitują w gemmy zawierające globule tłuszczowe. Gemmy tworzone są w pakietach luźno wiszących na strzępkach powietrznych lub zagłębionych w grzybni substratowej. Wiadomo, że liczne grzyby z rodzaju *Mortierella* są wykorzystywane w przemyśle jako źródło wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (Okuda i wsp., 2015), co mogło by potwierdzać ich wartość żywieniową. Badania grzybów izolowanych z materiału gniazdowego potwierdziły obecność innych taksonów *Mortierella*, niezaliczanych do „kladu *lignicola*”. Grupowe formowanie gemm, brak stadiów rozmnażania, izolacja wyłącznie z obszaru szczękowego u zdrowych owadów i pokrewieństwo filogenetyczne z innymi grzybami izolowanymi z kieszonek gębowych mrówek pozwala sformułować hipotezę o nieprzypadkowym i nieantagonistycznym związku grzybów należących do *Mortierella*, sekcji *lignicola* i mrówek. Obecnie trwają badania sprawdzające, czy ekspozycja grzybni *Mortierella* wobec mrówek w ich środowisku naturalnym wywołuje wzmożone zainteresowanie owadów – większe niż w przypadku grzybów nie tworzących gemm. Wstępne wyniki wykazują, że eksponowane fragmenty grzybni są w różny sposób traktowane przez mrówki. Grzybnia *Mortierella formicae* jest pobierana i zanoszona do gniazda przez robotnice *Formica*



pratensis i *Formica polyctena*, ale pomijana jako neutralny element środowiska przez *Formica sanguinea*.

4.H. OPISANO CZTERY NOWE DLA NAUKI GATUNKI GRZYBÓW ZWIĄZANYCH Z WYLINKOWCAMI (ART. 4.1; 4.5; 4.6)

H. 1. *Hirsutella vandergeestii* sp.nov.

H. vandergeestii została wyizolowana z roztoczy fitofagicznych. Wykazano, że grzyb ten atakuje roztocze z następujących rodzajów: *Amblyseius*, *Neoseiulus*, *Seiulus*, *Typhlodromus*, *Tarsonemus*. Kolonia wyłącznie w stadium anamorfy formuje długie, szydłowate fialidy z pojedynczymi konidiami w kropli lepkiego przesącza (art. 4.1, fig 4).

H.2. *Hirsutella danubiensis* sp.nov.

Grzyb znaleziony został w sierpniu 2007, w dolinie Dunaju w okolicach Wiednia, na przedziorku chmielowcu *Tetranychus urticae*, na liściach *Potentilla anserina*. (art. 4.1, fig 5). Grzyb ten jest łatwo odróżnialny od innych gatunków z tego rodzaju ze względu na niewielkie rozmiary konidiów tworzonych na wyjątkowo długich fialidach, które przyjmują formę wąskiego stożka – bez typowego dla innych gatunków z rodzaju *Hirsutella* rozszerzenia w bazalnej części komórki konidiotwórczej.

H.3 *Mortierella formicae* sp.nov.

Grzyb znaleziony został na mrówkach z gatunku *Formica pratensis* w Polsce, w dwóch gniazdach. Jego obecność na owadach została potwierdzona w kolejnym sezonie trzykrotnie, równolegle w kilku mrowiskach leżących w pasie wydmowym na wybrzeżu Morza Bałtyckiego (art. 4.5, fig. 167 i 168). Grzyb wystąpił w postaci grzybni wegetatywnej pozbawionej form płciowych i bezpłciowych. Cechami charakterystycznymi są jednak pakiety gemm tworzące dobrze wyodrębniające się z grzybni grudki wypełnione tłuszczem. Pakiety mają wielkość do 1 mm, są zazwyczaj dość twarde i przypominają sklerocja. Bieżące badania wskazują na skłonność mrówek z gatunku *F. pratensis* i innych gatunków z rodzaju *Formica* do pobierania grzybni i zanoszenia jej pakietów do gniazda. Praca podsumowująca obserwacje behawioralne jest obecnie w przygotowaniu.

H.4. *Tolypocladium fumosum* sp. nov.

Grzyb został znaleziony w Wigierskim Parku Narodowym na larwie ćmy z rodziny koszykarek Psychidae. Grzyb wystąpił w obu formach - anamorficznej oraz teleomorficznej. Z larwy ukrytej w charakterystycznym kokonie wyrosła podkładka z perytecjami, a u jej nasady również anamorfa mająca postać pojedynczych fialid z konidiami (art. 4.6, ryc., str. 378). Tym samym udało się w opisie gatunkowym ująć obie formy rozmnażania grzyba, co często jest trudne do obserwacji.

4.I. WYZNACZONO WSKAZÓWKI METODOLOGICZNE DO BADANIA GRZYBÓW ZWIĄZANYCH Z WYLINKOWCAMI. (ART. 4.4)

W artykule koncepcyjnym i przeglądowym podkreślono, że interakcje między grzybami i przedstawicielami wylinkowców zależą od kontekstu. Co więcej, ich rola jest zmienna w czasie. Jednoznaczne przypisywanie grzybom roli antagonistów bezkręgowców jest nieadekwatne. Grzyby towarzyszące owadom mogą w niektórych przypadkach okazać się czynnikiem zabezpieczającym przed innymi pato-



genami, co zostało opisane dla układu *Rickia wasmanii* – *Myrmica scabrinodis* (Konrad i wsp., 2012). Ostatnie doniesienia sugerują też, że zewnętrzny patogen zmienia strategię kolonii mrówczej wobec pasożytów gniazdowych (Csata i wsp., 2017) i koreluje dodatnio z zapotrzebowaniem na wodę (Báthori i wsp., 2015). Dopóki nie zostanie opisany dokładnie kontekst interakcji, wnioskowanie o znaczeniu jej dla żywicieli i organizmów towarzyszących pozostaje uproszczeniem, które może w pewnych warunkach okazać się wręcz błędne. W analizie interakcji między organizmami nie można zaniedbywać roli bakterii, która coraz częściej okazuje się kluczowa dla biologii grzybów i ich roli w środowisku. W świetle przedstawionych danych literaturowych w odniesieniu do układów grzyby-wylinkowce należy bezwzględnie przeanalizować pomijaną jak dotąd rolę bakterii dla układu zależności (np. rolę bakterii obecnych w gemmach *M. formicae*) oraz grzybów towarzyszących w układach antagonistycznych (np. rola *Engyodontium* w zakażeniu koszykarek grzybem z gatunku *Tolypocladium fumosum*).

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO – BADAWCZYCH

PRACE OPUBLIKOWANE PO DOKTORACIE:

5.A (ART. 5.1-5.4) MOLEKULARNA IDENTYFIKACJA I CHARAKTERYSTYKA GRZYBÓW TOWARZYSZĄCYCH OWADOM W RÓŻNYCH REJONACH ŚWIATA.

- 5.1 Kleespies R. G., Lim Y.W., Tkaczuk C., Wrzosek M., Steinwender B. & Wegensteiner R., *Metschnikowia cf. typographi* and other pathogens from the bark beetle *Ips sexdentatus* – Prevalence, histological and ultrastructural evidence, and molecular characterization, (2017), Journal of Invertebrate Pathology 143:69-78. dx.doi.org/10.1016/j.jip.2016.11.015
- 5.2 Schebeck M., Wrzosek M., Clausi M., Tarasco E., Tkaczuk C., Wegensteiner R., First record of *Beauveria bassiana* on *Tomicus minor* in Sicily, (2016), Bulletin of Insectology 69 (2): 311-317. ISSN 1721-8861.
- 5.3 Gorczak M., Tischer M., Pawłowska J., Wrzosek M., First record of *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales, Ascomycota) on *Harmonia axyridis* (Coccinellidae, Coleoptera) in Poland, (2016), Acta Mycologica 51(1): 1071, DOI: 10.5586/am.1071
- 5.4 Haelewaters D., Gorczak M., Pfliegler W.P., Tartally A., Tischer M., Wrzosek M., Pfister D.H., Bringing the Laboulbeniales to the 21st century: Enhanced techniques for extraction and PCR amplification of DNA from minute ectoparasitic fungi, (2015), IMA FUNGUS, 6(2): 363–372.

Badania grzybów owadobójczych wymagają zastosowania technik molekularnych do ich identyfikacji oraz charakterystyki. Częstą przeszkodą w pracach tego typu jest trudność utrzymania ich w kulturze. Niektóre plechy, jak np. grzybów należących do Laboulbeniales muszą być pozyskiwane bezpośrednio z pokryw ciała żywicieli, inne wymagają szczególnych warunków hodowlanych. Bardzo często zdarzają się też koinfekcje, a rozdzielenie współżyjących organizmów bywa niemożliwe. Praca 5.4 dotyczy metodyki badań nad specyficznymi grzybami workowymi, które występują na roztoczach oraz owadach. Laboulbeniales są uważane za ektopasożyty, ale ich wpływ na populację żywicieli jest ściśle zależny od warunków biocenotycznych. Praca jest szczegółowym wprowadzeniem w molekularne metody badań grzybów z rzędu Laboulbeniales, które przez swoją nietypową budowę oraz wielkość stanowią wyzwanie dla entomopatologów. Artykuł wiąże się z realizacją diamentowego grantu M. Gorczaka wykonywanego pod moją opieką i powstał jako owoc współpracy z zespołem D. Pfistera z Uniwersytetu



Harvarda. W ramach badań nad Laboulbeniales zajęliśmy się również grzybem *Hesperomyces virescens*, który jest zewnętrznym słabym patogenem chrząszczy. Występuje między innymi na inwazyjnej biedronce *Harmonia axyridis*. Owad pochodzi z Azji i obecnie rozprzestrzenił się po świecie. Spośród niemal 1,5 tysiąca przebadanych owadów infekcja grzybem *Hesperomyces virescens* została potwierdzona dla 1.11 % osobników. Należy podkreślić, że w Polsce grzyb ten wcześniej nie był notowany. W ramach badań międzynarodowego zespołu (5.1, 5.2) potwierdzono obecność patogenicznego grzyba *Beauveria bassiana* na *Tomicus minor* na Sycylii oraz na innym podkorowym chrząszczy *Ips sexdentatus* w Austrii. Tym samym przyczyniono się do poszerzenia wiedzy o tym gatunku dodając nowe dane o rozprzestrzenieniu geograficznym i interakcjach z konkretnymi bezkręgowcami z grupy wylinkowców Ecdysozoa.

5.B BADANIE WYSTĘPOWANIA GRZYBÓW W RÓŻNYCH SIEDLISKACH ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM OBSZARÓW CHRONIONYCH (ART.5.5-5.17)

- 5.5 Wrzosek M., Motiejunaite J., Kasparavicius J., Wilk M., Mukins E., Schreiner J., Vishnevskiy M., Gorczak M., Okrańska A., Istel Ł., Pawłowska J., The progressive spread of *Aureoboletus projectellus* (Fungi, Basidiomycota) in Europe, (2017), *Fungal Ecology*, 27, 134-136. [Dx.doi.org/10.1016/funeco.2017.02.003](https://doi.org/10.1016/funeco.2017.02.003)
- 5.5A Pawłowska J., Istel Ł., Gorczak M., Galera H., M.Wrzosek & Hawksworth D., (2017), *Psychronectria hyperantarctica*, gen. nov., comb. nov., epitypification and phylogenetic position of an Antarctic bryophilous ascomycete, *Mycologia*, DOI: 10.1080/00275514.2017.1398575, IF (1) =2.55 , pkt MNiSW = 30
- 5.6 Kujawa A., Gierczyk B., Domian G., Wrzosek M., Stasińska M., Szkodzik J., Leski T., Karliński L., Pietras M., Dynowska M., Henel A., Ślusarczyk D., Kubiak D., Preliminary studies of fungi in the Biebrza National Park. Part IV. Macromycetes – new data, (2015), *Acta Mycologica* 50(2), Article: 1070 [28 p.], DOI: 10.5586/am.1070
- 5.7 Ruszkiewicz-Michalska M., Bałazy S., Chelkowski J., Dynowska M., Pawłowska J., Sucharzewska E., Szkodzik J., Tkaczuk C., Wilk M., Wrzosek M., Preliminary studies of fungi in the Biebrza National Park. Part III. Micromycetes-new data, (2015), *Acta Mycologica* 50 (2), DOI: 10.5586/am.1067
- 5.8 Wilk M., Banach A., Wrzosek M., Pawłowska J., Leaf-litter microfungal community on poor fen plant debris in Torfy Lake area (East-Central Poland), (2014), *Acta Mycologica*, Vol. 49 (1):31-45, DOI:10.5586/am.2014.003
- 5.9 Wilk M., Pawłowska J., Wrzosek M., *Wentomyces* sp. from plant litter on poor fen in northeastern Poland, (2014), *Acta Mycol.* 49(2):237–247. DOI: 10.5586/am.2014.021
- 5.10 Pawłowska J., Wilk M., Śliwińska-Wyrzychowska A., Mętrak M., Wrzosek M., The diversity of endophytic fungi in above-ground tissue of two Lycopodium species in Poland, (2014), *Symbiosis* 63: 87-97
- 5.11 Kujawa A., Wrzosek M., Domian G., Kędra K., Szkodzik J., Rudawska M., Leski T., Karliński L., Pietras M., Gierczyk B., Dynowska M., Ślusarczyk D., Kałucka I., Ławrynowicz M., Preliminary stu-



- dies of fungi in the Biebrza National Park (NE Poland), II. Macromycetes, (2012), *Acta Mycologica* Vol. 47 (2): 235–264.
- 5.12 Ruszkiewicz-Michalska M., Tkaczuk C., Dynowska M., Sucharzewska M., Szkodzik J., Wrzosek M., Preliminary studies of fungi in the Biebrza National Park (NE Poland). I. Micromycetes, (2012), *Acta Mycologica*, Vol. 47 (2): 213–234
- 5.13 Budziszewska J., Szypuła W., Wilk M., Wrzosek M., *Paraconiothyrium babiogorensis* sp. nov., a new endophyte from fir club moss *Huperzia selago* (Huperziaceae), (2011), *Mycotaxon* 115: 457–468.
- 5.14 Kubiak D., Zaniewski P., Wrzosek M., Notes on the distribution of *Sphinctrina anglica* and its host in Poland, (2010), *Polish Botanical Journal* 55 (1): 239–242.
- 5.15 Budziszewska J., Boulahdjel A., Wilk M., Wrzosek M., Soil zygomycetous fungi in Biebrza National Park (Northeast Poland), (2010), *Polish Botanical Journal* 55(2): 391–407.
- 5.16 Gorczak M., Pawłowska J., Wrzosek M. [w:] Li G.J., Hyde K.D., Zhao R.L., Peršoh D., Phillips A.J.L., Maharachchikumbura S.S.N., Fungal diversity notes 253–366: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa, (2016), *Fungal Diversity*. 78:1.
- 5.17 Wilk M., Pawłowska J., Wrzosek M., Gorczak M., Suska-Malawska M., Colonization of decomposing Sphagnum moss litter by mycorrhizal roots in two types of peatland ecosystems, (2014), *Folia Biologica et Oecologica*, 10, 113–121.
- 5.18 Pawłowska J., Wilk M., Śliwińska-Wyrzykowska A., Mętrak M., Wrzosek M., *Paraconiothyrium polonense* sp. nov. [w:] Crous P.W., Wingfield M.J., Guarro J., Cheewangkoon R., i wsp. (2013), *Fungal Planet description sheets*: 154–213. *Persoonia* 31: 188–296.

W moim dorobku naukowym można wyróżnić szereg prac, który powstawały w wyniku badań obszarów cennych przyrodniczo. Wyszczególnić wśród nich należy Biebrzański Park Narodowy, Babiogórski Park Narodowy oraz obszary torfowisk wysokich rozsięte po Polsce Północnej. Obszar Biebrzańskiego PN został w ostatnich latach gruntownie opracowany pod względem mykologicznym. Uczestniczyłam zarówno w badaniach grzybów wielkoowocnikowych (art. 5.6; 5.11), jak i w badaniach grzybów mikroskopijnych ze szczególnym uwzględnieniem mykocenozy glebowych oraz grzybów owadobójczych (art. 5.7; 5.12; 5.15). Publikacja (5.15) pozwala zobaczyć mykobiotę grzybów glebowych należących do Zygomycota związanych z torfowiskami w kontekście badań innych obszarów tego typu analizowanych na świecie. We wszystkich pracach z tego działu zaprezentowano szereg nowych dla Polski taksonów. Jak dotąd obszary bagiennie były w Polsce poznane słabo, a BPN posiadał wyłącznie listę 60 gatunków grzybów. Po naszych badaniach liczba ta wzrosła do około 1000. Badania grzybów Parku Narodowego, znanego jako największy obszar bagienny w Polsce, pociągnęły za sobą prace dotyczące podobnych siedlisk (5.8; 5.9). Praca (5.17) podkreśla udział grzybów mykoryzowych w rozkładzie torfu na torfowiskach wysokich i przejściowych. Jak dotąd rozkład podłoża torfowego nie był tematem prac *stricto* mykologicznych. W czasie badań bioróżnorodności z reguły możliwe są jeszcze odkrycia grzybów rzadkich lub nieznanymi nauce. Do największych osiągnięć tego cyklu należy zaliczyć opis trzech grzybów nieznanymi dotąd nauce. Są to endofityczne *Paraconiothyrium polonense* oraz *Paraconiothyrium babiogo-*



rense izolowane z widłaków Lycopodiales, opisane przez Julię Pawłowską i wsp. (5.13, 5.16) oraz grzyb *Mortierella calcyphila* pozyskany z gleby w Nadleśnictwie Polanów (5.18). Ostatnio opublikowana praca (5.5A) powstała jako rezultat współpracy z brytyjskim mykologiem Davidem Hawksworthem i dotyczy wydzielenia nowego rodzaju *Psychronectria* dla grzyba pasożytującego na mchach antarktycznych. Materiał biologiczny został pozyskany dzięki współpracy z Haliną Galerą z Zakładu Ekologii i Ochrony Środowiska UW. Wszystkie cztery wyżej wymienione prace mają charakter taksonomiczny. Innym wątkiem, związanym z badaniami obszarów torfowiskowych było znalezienie na terenie Polski, w torfowych zagłębieniach międzywymowych złotaka wysmukłego *Aureoboletus projectellus*. Grzyb ten pojawił się w Europie pod koniec XX wieku i obecnie intensywnie rozprzestrzenia się u wybrzeży Morza Bałtyckiego. Dynamika jego występowania została opracowana dzięki współpracy wielu mykologów europejskich. Obecnie (praca w przygotowaniu) udało nam się stworzyć model dalszego rozprzestrzeniania się tego grzyba na kontynencie uwzględniający wymagania klimatyczne wnioskowane na podstawie zasięgu naturalnego i występowania sosny, z którą grzyb wchodzi w mykoryzy.

5. C TAKSONOMIA I FILOGENEZA GRZYBÓW Z RZĘDU MUCORALES W ŚWIETLE ANALIZ FIZJOLOGICZNYCH I MOLEKULARNYCH (5.19-5.24)

- 5.19 Budziszewska J., Piątkowska J., Wrzosek M., Taxonomic position of *Mucor hiemalis* f. *luteus*, (2010), *Mycotaxon* 111: 75-85.
- 5.20. Hoffmann, K., Pawłowska J., Walther G., Wrzosek M., de Hoog G.S., Benny G.L., Kirk P.M., Voigt K., The family structure of the Mucorales: a synoptic revision based on comprehensive multigene-genealogies, (2013), *Persoonia* 30: 57-76.
- 5.21. Hyde K.D., Nilsson R.H., Alias S.A., Ariyawansa H.A., Blair J.E., Lei Cai, de Cock A.W.A.M., Dissanayake A.J., Glockling S.L., Goonasekara I.D., Gorczak M., Hahn M., Jayawardena R.S., van Kan J.A.L., Laurence M.H., Lévesque A., Xinghong Li, Jian-Kui Liu, Maharachchikumbura S.S.N., Manamgoda D.S., Martin F.N., McKenzie E.H.C., McTaggart A.R., Mortimer P.E., Nair P.V.R., Pawłowska J., Rintoul T.L., Shivas R.G., Spies C.F.J., Summerell B.A., Taylor P.W.J., Terhem R.B., Udayanga D., Vaghefi N., Walther G., Wilk M., Wrzosek M., Jian-Chu Xu, JiYe Yan, Nan Zhou, (2014), One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera,. *Fungal Diversity* DOI: 10.1007/s13225-014-0298-1.
- 5.22 Pawłowska J., Aleksandrak-Piekarczyk T., Banach A., Kiersztyn B., Muszewska A., Serewa L., Szatraj K., Wrzosek M., Preliminary studies on the evolution of carbon assimilation abilities within Mucorales, (2016), *Fungal Biology* 120: 752-763. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2016.02.004>.
- 5.23 Walther, G., Pawłowska J., Alastruey-Izquierdo A., Wrzosek M., Rodriguez-Tudela J.L., Dolatabadi S., Chakrabarti A., de Hoog. S.G., DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity, (2013), *Persoonia* 30: 11-47.
- 5.24 Pawłowska J., Walther G., Wilk M., de Hoog G.S., Wrzosek M., The use of compensatory base change analysis of ITS2 as a tool in the phylogeny of Mucorales, illustrated by the *Mucor circinelloides* complex, (2013), *Organisms Diversity and Evolution* 13: 497-502.



Prace ujęte w podrozdziale 5.C, które łączą się tematycznie z zagadnieniami opracowanymi w mojej pracy doktorskiej są rozwijane przez dr Julię Pawłowską. Powstają jako rezultat grantów finansowanych przez NCN, których jest kierownikiem. Jako że jedną z tez mojego doktoratu było wskazanie na konieczność wysokiej ostrożności przy próbie wykorzystywania jakichkolwiek cech morfologicznych do wnioskowania taksonomicznego, J. Pawłowska i wsp. (5.22) testują kolejną hipotezę zakładającą możliwość zastosowania profilu fizjologicznego pobierania 95 różnych źródeł węgla. Bazując na wykorzystaniu mikromacierzy systemu Biolog, praca wskazuje na zmienność wewnątrzgatunkową, wpływ warunków abiotycznych na zdolności do rozkładu źródeł węgla, a także na prawdopodobny wpływ bakterii endobiotycznych na możliwości fizjologiczne grzybów. Wejście w kooperację z międzynarodowym zespołem z Jeny i Utrechtu dotyczącą badań molekularnych pleśniakowców, pozwoliło na wyprowadzenie najpełniejszego jak dotąd modelu ewolucji i drzewa filogenetycznego Mucorales (5.20). Praca jest obecnie podstawowym opracowaniem klasyfikacji Mucorales i podziału rzędu na niższe jednostki taksonomiczne. Dwie prace z tego cyklu dotyczą procesów specjacji. W pracy (5.19) wykazano, że grzyb opisany przez Schipper jako *Mucor hiemalis f. luteus*, powinien być wyodrębniony w niezależny gatunek *M. luteus*. Przedstawiono pełny opis morfologiczny oraz molekularne dowody odrębności tego taksonu. Praca (5.24) dotyczy wykorzystania metody opierającej się na modelowaniu struktury drugorzędowej rDNA do wyznaczenia miejsc wykazujących kompensacyjne wymuszenia zmiany nukleotydu w przypadku zajścia substytucji nukleotydu w komplementarnej nici. Jako że struktura drugorzędowa ITS wydaje się konserwowaną cechą, pojawienie się nukleotydu niekomplementarnego jest zaburzeniem, którego negatywny wpływ może być skompensowany przez zmianę nukleotydu w nici równoległej. Wykazano wcześniej, że jeśli można w sekwencji ITS wyróżnić choć jedno miejsce z w którym wystąpiła kompensacyjna zmiana w parze nukleotydów (co wyznaczamy z przyrównania do sekwencji grzybów siostrzanych), to grzyb ten formuje nowy gatunek, choć jego podobieństwo do blisko spokrewnionych może być znaczące. Praca testowała metodę wyszukiwania zmian kompensacyjnych nukleotydów i wyznaczania różnic gatunkowych na przykładzie blisko spokrewnionych taksonów z rodzaju *Mucor* oraz badała jej założenia względem analiz krzyżowania wykonanych znacznie wcześniej przez Shipper (1976). Wkładem naszego zespołu w pracę (5.23) jest przygotowanie szeregu sekwencji charakterystycznych (ITS) dla grzybów z rzędu Mucorales. W sumie zaprezentowano w artykule sekwencje dla 203 taksonów, co stanowi około 2/3 wszystkich gatunków opisanych w tym rzędzie i jest bazą referencyjną do której można się odwoływać przy pracach identyfikacyjnych i przy opisie grzybów nowych dla nauki. Wskazano jednocześnie pojedyncze taksony, dla których ITS nie może służyć za dobry kod kreskowy. Wraz z dużym międzynarodowym zespołem opracowano markery molekularne przydatne w diagnozowaniu obecności grzybów fitopatogenicznych. Nasz zespół opracowywał dane dotyczące grzybów z rzędu Mucorales. (art. 5.21)

5.D UDZIAŁ GRZYBÓW W PROCESACH ROZKŁADU MARTWEJ MATERII ORGANICZNEJ PNIĄKÓW SOSNOWYCH I ŚWIERKOWYCH.

- 5.25 Sierota Z., Wrzosek M., Sikora K., Biedunkiewicz A., Pawłowska J., Tarwacki G., Małecka M., Żółciak A., The impact of *Phlebiopsis gigantea* treatment on bacterial and fungal communities inhabiting Norway spruce stumps, (2016), Austrian Journal of Forest Science 133(6): 31-49.
- 5.26 Sierota Z., Nowakowska J., Sikora K., Wrzosek M., Żółciak A., Małecka M., Genetic Variation Among *Phlebiopsis gigantea* Strains Determined by Random Amplified Microsatellite Markers, (2015), Baltic Forestry 21(2) 178-183.



- 5.27 Sierota Z., Nowakowska J.A., Sikora K., Wrzosek M., Żółciak A., Małecka M., What is important in selecting *Phlebiopsis gigantea* strain for commercial use?, (2015), Journal of Agricultural Science and Technology B. 5:55-64. DOI:10.17265/2161-6264/2015.01.006
- 5.28. Sierota Z., Wrzosek M., Małecka M., Żółciak A., Decay indices for evaluating wood decomposition activity, (2015), Biocontrol Science and Technology, 26(2): 163-173. DOI: 10.1080/09583157.2015.1085000.
- 5.29 Wrzosek M., Sierota Z., Sikora K., Małecka M., Pawłowska J., Bogactwo grzybów zasiedlających drewno pniaków świerkowych po roku od sztucznego zakażenia *Phlebiopsis gigantea*, (2014), Studia i Materiały CEPL w Rogowie 16 (41 / 4), 202-211.

Kolejny zestaw prac, numerowany od 5.25 do 5.29 dotyczy udziału grzybów w rozkładzie martwej materii organicznej. Głównym tematem artykułów jest dekompozycja drewna pniaków sosnowych i świerkowych. Prace te powstawały we współpracy z pracownikami Instytutu Badawczego Leśnictwa. Jednym z ważnych celów w ramach fitopatologii leśnej jest badanie wpływu najpoważniejszych pasożytów drzew – korzeniowca wieloletniego *Heterobasidion annosum* oraz opieńek *Armillaria* spp. na populacje organizmów leśnych. Podejmuje się próby kontroli patogenów przez wprowadzanie grzyba konkurencyjnego – *Phlebiopsis gigantea*. Pniaki sosnowe i świerkowe są od wielu lat na świecie zabezpieczane przed inwazją szkodliwych grzybów przez sztuczną inokulację tego grzyba. Wymienione powyżej prace dotyczą porównania zmienności genetycznej i fizjologicznej szczepów *Phlebiopsis* oraz znaczenia tych zabiegów dla mikrocenoz w pniakach. W ramach pracy (5.25, 5.29) została wyznaczona mykobiota pniaków inokulowanych *Ph. gigantea* i kontrolnych. Celem prac było sprawdzenie czy introdukcja silnego konkurencyjnie podstawczaka nie wpłynie negatywnie na populacje grzybów występujących naturalnie na pniakach świerkowych. Praca wykazała jednak niewielką wykrywalność *Ph.gigantea* w górnej części pniaka. Obecność szczepów *Phlebiopsis* wpływała na niewielkie ubożenie mykocenoz. Prace (5.27 i 5.28) skupiają się na wyznaczeniu wskaźników, które mogą być indykatorami skuteczności rozkładu drewna przez pozyskiwane z natury szczepy *Phlebiopsis*, co nie musi korelować z początkowym wysokim tempem rozkładu. Praca (5.26) wykazuje dużą zmienność genetyczną szczepów *Phlebiopsis gigantea*, mierzoną analizą sekwencji mikrosatelitarnych. Wykazano w niej również, podobieństwo niektórych profili mikrosatelitarnych otrzymanych dla szczepów izolowanych w Polsce do szczepu brytyjskiego – dostępnego jako środek ochrony biologicznej, co może świadczyć o rozprzestrzenianiu się szczepów komercyjnych poza miejsca introdukcji.

5. E. WYKORZYSTANIE ZDOLNOŚCI ENZYMATYCZNYCH GRZYBÓW IZOLOWANYCH Z NATURY DO ROZKŁADU KSENOBIOTYKÓW I ODPADÓW POPRODUKCYJNYCH

- 5.30 Kornilłowicz-Kowalska T., Wrzosek M., Ginalska G., Banczerz R., Iglík H., Identification and application of a new fungal strain *Bjerkandera adusta* R 59 in decolorization of daunomycine wastes, (2006), Enzyme and Microbial Technology 39:583-590.
- 5.31. Różalska S., Soboń A., Pawłowska J., Wrzosek M., Długoński J., Biodegradation of nonylphenol by a novel entomopathogenic *Metarhizium robertsii* strain, (2015), Bioresource Technology 191, 166-172. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.05.011



5.32 Różalska S., Pawłowska J., Wrzosek M., Tkaczuk C., Długoński J. Utilization of 4-nonylphenol by *Metarhizium* sp. isolates, (2013), Acta Biochim. Pol. 60: 677-682.

W podrozdziale zestawiono trzy prace o charakterze biotechnologicznym. Składają się na nie artykuły powstałe w kooperacji z zespołem prof. Jerzego Długońskiego i dr hab. Sylwii Różalskiej z Łodzi i prof. Teresy Kornilowicz-Kowalskiej z Lublina. Grzyby od dawna postrzegane są jako wyjątkowo cenne organizmy ze względu na szeroką gamę wytwarzanych przez nie enzymów. Tylko nieliczne z nich, jak np. gatunki z rodzaju *Aspergillus*, doczekały się jednak szczegółowego opracowania profili enzymatycznych i wdrożeń przemysłowych (Vries i Visser, 2001). Praca (5.30) dotyczy *Bjerkandera adusta* - grzyba, który w swojej formie anamorficznej został wyizolowany z pozostałości pofermentacyjnych związanych z produkcją daunomycyny. Grzyb, lepiej znany w postaci teleomorficznej - jako grzyb saprotroficzny rozwijający się na drewnie liściastym, okazał się biotechnologicznie przydatny w rozkładzie resztek poprodukcyjnych. Grzyb został pozyskany z gleby w eksperymencie z wystawianiem pakietów ksenobiotyków w różnych siedliskach i wystąpił w postaci płonnej grzybni. Jego identyfikacja była więc kluczowa do dalszych badań i pozyskiwania kolejnych szczepów z natury. Molekularne badania przeprowadzone przeze mnie umożliwiły identyfikację izolatu. Co ciekawe, grzyb nie należy do najczęściej wykorzystywanych biotechnologicznie workowców w stadiach anamorficznych, ale jest grzybem podstawkowym znanym jako saprotrof nadrewnowy. Prace 5.31 i 5.32 pisane we współpracy z zespołem prof. Długońskiego i dr hab. Sylwii Różalskiej z Łodzi dotyczą biotechnologicznego wykorzystania grzybów z rzędu Hypocreales. *Metarhizium robertsii* jest grzybem owadobójczym pozyskiwanym z martwych owadów i gleby. Wykazuje wiele różnych własności enzymatycznych, w tym zdolność do degradacji nonylfenolu – środka szeroko wykorzystywanego w przemyśle (detergenty, farby, pestycydy, plastiki), a mogącego niekorzystnie wpływać na zdrowie człowieka poprzez działanie typu estrogenowego (ksenoestrogen). Wyznaczono szczepy szczególnie aktywne w rozkładzie tego związku oraz scharakteryzowano ich aktywność. Wkładem naszego zespołu do pracy była identyfikacja oraz molekularna i morfologiczna analiza szczepu.

PRACE OPUBLIKOWANE PRZED DOKTOREM:

5.33 Wrzosek M., and Z. Gajowniczek. (1998). Some zygomycetous Fungi New to Poland. Acta Mycologica 33: 265-271.

5.34 Beblowska M. (1991/1992). Four noteworthy coprophilic Mucorales from Eastern Poland. Acta Mycologica 27(2) 272-276.

Prace opublikowane przed doktoratem związane były z badaniami ekologii i pozycji systematycznej grzybów z rzędu Mucorales, które w Polsce były mało znane. Badania terenowe pozwoliły uzyskać szereg grzybów bardzo rzadkich w skali świata i rozszerzyć wiedzę o ich ekologicznych preferencjach.

DANE SCJENTOMETRYCZNE DOROBKU WRAZ Z OSIĄGNIĘCIEM

Indeks Hirscha wg bazy Web of Science na dzień 09.09.2017 – 9

Suma cytowań wg Web of Science– 375

Suma IF =77,94



Bibliografia:

- Aguinaldo, A. M. A.; Turbeville J. M.; Linford L. S.; Rivera M. C.; Garey J. R.; Raff R. A.; Lake J. A., (1997), Evidence for a clade of nematodes, arthropods, and other moulting animals. *Nature*. 387 (6632), 489–493. Bibcode:1997Natur.387R.489A doi:10.1038/387489a0. PMID 9168109
- Baliński A., Sun Y., Dzik J., (2013), Traces of marine nematodes from 470 million years old Early Ordovician rocks in China, *Nematology*, 15, 567-569
- Bałazy S. Wiśniewski J., (1983), A new species of epizoic fungus on ants., *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences, Ser. De Sci. Biol.*30, 85-88
- Bałazy, S. (1993). *Flora of Poland. Fungi (Mycota), Vol. 24: Entomophthorales.*:1-356, Wyd. Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- Báthori, F., Csata, E. & Tartally, A., (2015), *Rickia wasmannii* increases the need for water in *Myrmica scabrinodis* (Ascomycota: Laboulbeniales; Hymenoptera: Formicidae). *J. Invertebr. Pathol.* 126, 78–82
- Blackwell M., (2010), Fungal Evolution and Taxonomy, *Biocontrol* 55 (1), 7-16
- Blackwell M., (2011), The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany* 98(3), 426–438
- Blair, J. E.; Ikeo K.; Gojobori T., Hedges S.B., (2002), The evolutionary position of nematodes, *BMC Evolutionary Biology*. 2, 7. doi:10.1186/1471-2148-2-7. PMC 102755. PMID 11985779
- Broza M., Pereira R.M., Stimac J.L., (2001), The nonsusceptibility of soil Collembola to insect pathogens and their potential as scavengers of microbial pesticides, *Pedobiologia* 45, 523–534
- Chen, S., Liu, X. Z., & Chen, F. J., (2000). *Hirsutella minnesotensis* sp. nov., a new pathogen of the soybean cyst nematode, *Mycologia* 92 (5), 819-824.
- Cokendolpher J.C., (1993) Pathogens and Parasites of Opiliones (Arthropoda, Arachnida), *Journal of Arachnology* 21(3), 120-146.
- Csata E., Timuş N., Witek M., Casacci L.P., Lucas Ch., Bagnères A-G., Sztencel-Jablonka A., Barbero F., Bonelli S., Rákossy L., Markó B., (2017), Lock-picks: fungal infection facilitates the intrusion of strangers into ant colonies. *Nature Scientific Reports*, 7:46323 | doi: 10.1038/srep46323
- Dunn C.W., Hejnal A., Matus D.Q., Pang K., Browne W.E., Smith S.A., Seaver E., Rouse G.W. et al., (2008), Broad phylogenomic sampling improves resolution of the animal tree of life, *Nature*. 452 (7188), 745–749. Bibcode: 2008 Nature.452.745D. doi:10.1038/nature06614. PMID 18322464
- Espadaler X., Santamaria S. (2012), Ecto- and Endoparasitic Fungi on Ants from the Holarctic Region. *Psyche* Article ID 168478, 10 pages doi:10.1155/2012/168478
- La Fuente J.de, (2003), The fossil record and the origin of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida) *Experimental & Applied Acarology*, 29 (3), 331–344



- Górz A, Boroń P., (2016), The Yeast Fungus *Trichosporon lactis* found as an epizotic colonizer of dung beetle exoskeletons. *Microb Ecol.* 2016 Feb;71(2):422-7. doi: 10.1007/s00248-015-0674-8. Epub 2015 Sep 18
- Gryganskyi A.P., Humber R.A., Smith M.E., Hodge K., Huang B., Voigt K. & Vilgalys R., (2013), Phylogenetic lineages in Entomophthoromycota, *Persoonia*, 30: 94–105. doi: 10.3767/003158513X666330, PMID: PMC3734969
- James T.Y., Kauff F., Schoch C., Matheny P.B., Hofstetter V., Cox C.J., Celio G., Geuidan C., Fraker E., Miadlikowska J., Lumbsch H.T., Rauhut A., Reeb V., Arnold A.E., Amtoft A., Stajich J.E., et al., (2006), Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny, *Nature* 443, 818–822. <http://dx.doi.org/10.1038/nature05110>
- Johnson D., Sung G-H., Hywel-Jones N.L., Bischoff J.F., Kepler R.M., Spatofora J. W., (2009), Systematics and evolution of the genus *Torrubiella* (Hypocreales, Ascomycota) *Mycological Research* 113 (2009) 279–289, doi:10.1016/j.mycres.2008.09.008
- Johnstone I.L.,(1994), The cuticle of the nematode *Caenorhabditis elegans*: a complex collagen structure. *Bioessays*, 16 (3): 171-178.
- Hodge K.T., (1998), Revisionary studies in *Hirsutella* (anamorphic Hypocreales :Clavicipitaceae) Thesis PhD Dissertation, Ann Arbor, Mich. University.
- Humber R., (2012), Entomophthoromycota: a new phylum and reclassification for entomophthoroid fungi, *Mycotaxon* 120, 477–492, <http://dx.doi.org/10.5248/120.477>
- Kethley J.B, Norton R.A, Bonamo P.N, Shear W.A, (1989), A terrestrial alicorhagiid mite (Acariformes) from Devonian of New York. *Micropaleontology*, 35 (4), 367-373
- Kurihara Y., Harayama S., Shirouzu T., Tokumasu S., (2009), *Hirsutella proturicola* sp. nov. isolated from a proturan, *Baculentulus densus* (Protura, Hexapoda), *Mycoscience*, Volume 50 (1)56-62, ISSN 1340-3540, <http://dx.doi.org/10.1007/S10267-008-0443-3>
- Konrad, M. Vyleta ML, Theis FJ, Stock M, Tragust S, Klatt M, Drescher V, Marr C, Ugelvig LV, Cremer S., (2012), Social transfer of pathogenic fungus promotes active immunisation in ant colonies. *PLoS Biol* 10, e1001300
- Lai, Y., Liu, K., Zhang, X., Zhang, X., Li, K., Wang, N., ... Liu, X., (2014), Comparative Genomics and Transcriptomics Analyses Reveal Divergent Lifestyle Features of Nematode Endoparasitic Fungus *Hirsutella minnesotensis*. *Genome Biology and Evolution*, 6(11), 3077–3093. <http://doi.org/10.1093/gbe/evu241>
- Lange L., (2014), The importance of fungi and mycology for addressing major global challenges, *IMA Fungus* · 5(2): 463–471 doi:10.5598/imafungus.2014.05.02.10
- Liu, X. Z., & Chen, S. Y. (2001). Screening isolates of *Hirsutella* species for biocontrol of *Heterodera glycines*. *Biocontrol Science and Technology*, 11(1), 151-160. DOI: 10.1080/09583150020029826



- Liu, S., & Chen, S. (2005). Efficacy of the fungi *Hirsutella minnesotensis* and *H. rhossiliensis* from liquid culture for control of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. *Nematology*, 7(1), 149-157. DOI: 10.1163/1568541054192153
- Liu X.Z., Wang Q.M., Theelen B., Groenewald M., Bai F.Y., Boekhout T., (2015 A), Phylogeny of tremellomycetous yeasts and related dimorphic and filamentous basidiomycetes reconstructed from multiple gene sequence analyses. *Stud Mycol.* 81, 1–26 Published online 2015 Oct 2. doi: 10.1016/j.simyco.2015.08.001
- Liu, X.-Z., Wang, Q.-M., Göker, M., Groenewald, M., Kachalkin, A. V., Lumbsch, H. T., ... Bai, F.-Y., (2015 B). Towards an integrated phylogenetic classification of the *Tremellomycetes*. *Studies in Mycology*, 81, 85–147. <http://doi.org/10.1016/j.simyco.2015.12.001>
- Ma R., Liu X.Z., Jian H., Li S. (2005), Detection of *Hirsutella* spp. and *Pasteuria* sp. parasitizing second-stage juveniles of *Heterodera glycines* in soybean fields in China. *Biological Control*, 33, 223–229, doi:10.1016/j.biocontrol.2005.03.004
- Mains 1949, New species of *Torrubiella*, *Hirsutella* and *Gibellula*, *Mycologia* 41, 303-310
- Mayr, E. (1997) *This is Biology*, Cambridge, Belknap Press of Harvard University Press, pp.352, ISBN 97-8-0-674-88469-4
- Okuda T., Ando A., Negoro H., Kikukawa H., Sakamoto T., Sakuradani E., Shimizu S., Ogawa J., (2015), Omega-3 eicosatetraenoic acid production by molecular breeding of the mutant strain S14 derived from *Mortierella alpina* 1S-4, *J Biosci Bioeng.*120(3), 299-304
- Pell J.K, Eilenberg J, Hajek A.E., Steinkraus, DC, (2001), Biology, ecology and pest management potential of Entomophthorales, [w:] Butt TM., Jackson C., Magan N, *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*, CABI Editions, London, .471-154, doi:10.1079/9780851993560.0071
- Peschel K., Roj N.A., Scheu S., Maraun M., (2006), Do oribatid mites live in enemy-free space? Evidence from feeding experiments with the predatory mite *Pergamasus septentrionalis*. *Soil Biology and Biochemistry* 38 (9) 2985-2989. doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.035.
- Pultar O., Kocourek F., Beránková J., Stará J., Kuldová J., Hrdý I., (2000), Codling moth management by means of pheromone stations with *Cydia pomonella* granulosis virus, *ISHS Acta Horticulturae* 525: International Conference on Integrated Fruit Production 10.17660/ActaHortic.2000.525.71
- Rehner S.A., Minnis A.M., Sung G.H., Luangsa-ard J.J., Devotto L., Humber R.A., (2011) Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia.*, 103(5), 1055-73. doi: 10.3852/10-302. Epub 2011 Apr 11
- Retamal, C., Barta M., Rojas Pérez E., Valenzuela Flores E., (2013), *Neozygites osornensis* sp. nov., a fungal species causing mortality to the cypress aphid *Cinara cupressi* in Chile. *Mycologia* 105.3, 661-669.
- Roshan A.S., Janaki C., Parveen B., (2009), White Piedra in a Mother and Daughter, *International Journal of Trichology*, 1(2), 140-141. doi: 10.4103/0974-7753.58559. PMID: PMC2938578



- Schipper M.A.A., (1976) On *Mucor circinneloides*, *Mucor racemosus* and related species. *Studies in Mycology* 4, 1-40
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W., (2012), Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;109(16),6241-6. doi: 10.1073/pnas.1117018109. Epub 2012 Mar 27
- Spatafora J.W., Chang Y., Benny G.B., Lazarus K., Smith M.E., Berbee M.L., Bonito G., Corradi N., Grigoriev I., Gryganskyi A., James T.Y., O'Donnell K., Roberson R.W., Taylor T.N., Uehling J., Vilgalys R., White M.M. & Stajich J.E., (2016), A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data, *Mycologia*, 108:5, 1028-1046, DOI:10.3852/16-042
- Stewart A., Brownbridge M., Hill R.A., Jackson T.A., (2010), Utilizing Soil Microbs for Biocontrol. w. eds. G.R. Dixon, E.L. Tilston „Soil Microbiology and Sustainable Crop Production, Springer, ISBN 978-90-481-9478-0, e-ISBN 978-90-481-9479-7, Dordrecht Heidelberg, London, New York., str. 315-372
- Suh S-O, Blackwell M., (2005), The Beetle Gut as a Habitat for New Species of Yeasts, [w:] Insect-fungal associations: Ecology and evolution, eds. F.E. Vega and M. Blackwell, pp.244.
- Sun J., Park, S-Y., Kang S., Liu, X.Z., Qiu, J., Xiang, M., (2015), Development of a transformation system for *Hirsutiella* spp. and visualization of the mode of nematode infection by GFP-labeled *H. minnesotensis*, *Scientific Reports*, 2015/07/20/online, 5, 10477, <http://dx.doi.org/10.1038/srep10477>, 10.1038/srep10477
- Sung G.H., Hywel-Jones N.L., Sung J.M., Luangsa-ard J.J., Shrestha B., Spatafora J.W., (2007), Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi, *Studies in Mycology*. 57: 5–59. doi:10.3114/sim.2007.57.01. PMC 2104736. PMID 18490993
- Taylor J., (2011), One Fungus = One Name: DNA and fungal nomenclature twenty years after PCR, *IMA Fungus*. Dec; 2(2): 113–120. doi: 10.5598/imafungus.2011.02.02.01
- Tischer M., Gorczak M., Szczepaniak K., Pawłowska J., Wrzosek M., (2015), Putative and novel fossils of insect-associated fungi from Polish Baltic Amber, nr 62, book of abstracts p.126. XVII Congress of European Mycologists, 09.2015, Madeira, Portugalia, poster
- De Vienne de D.M., Refrégier G., López-Villavicencio M., Tellier A., Hood M.E., Giraud T., (2013), Co-speciation vs host-shift speciation: methods for testing, evidence from natural associations and relation to coevolution. *New Phytol.* 2013 Apr;198(2):347-85. doi: 10.1111/nph.12150. Epub 2013 Feb 25
- de Vries R.P., Visser J., (2001), *Aspergillus* enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides. *Microbiol Mol Biol Rev.* Dec;65(4):497-522. DOI: [10.1128/MMBR.65.4.497-522.2001](https://doi.org/10.1128/MMBR.65.4.497-522.2001)
- Wagner L., Stielow B., Hoffmann K., Petkovits T., Papp T., Vágvölgyi C., ... Voigt K., (2013), A comprehensive molecular phylogeny of the *Mortierellales* (Mortierellomycotina) based on nuclear ribosomal DNA. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 30, 77–93. <http://doi.org/10.3767/003158513X666268>



Vega F.E. i Dowd P.F., (2005), The Role of Yeasts as Insect Endosymbionts [w:] Insect-fungal associations: Ecology and evolution, eds. F.E. Vega and M. Blackwell, eds.211-244.

Xiang M-C., Yang X-H., Wang Z-X., Liu X-Z., Chen S-Y., Xiao Q-M., (2007), Variability of morphology, parasitism, and nucleotide sequences among isolates and species of nematophagous *Hirsutella*, Biological Control, Volume 41 (1), 110-119

Wnosek