

УДК 595.768.24:582.288

ПЕРВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ГРИБНЫХ ПАТОГЕНАХ (ASCOMYCOTA, HYROSCREALES) В ИНВАЗИЙНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ УССУРИЙСКОГО ПОЛИГРАФА *POLYGRAPHUS PROXIMUS* BLANDF.

© 2015 Керчев И.А.^{1*}, Крюков В.Ю.¹, Ярославцева О.Н.¹, Половинко Г.П.¹,
Токарев Ю.С.^{2**}, Глупов В.В.¹

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН,
Новосибирск, 630091;

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
Санкт-Петербург, Пушкин, 196608;
e-mail: * ikea86@mail.ru; ** jumacro@yahoo.com

Поступила в редакцию 20.02.2016

Проведён анализ видового состава энтомопатогенных аскомицетов, циркулирующих в западно-сибирской популяции инвазионного вредителя пихты сибирской – уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. В результате морфологического и/или молекулярно-генетического анализа установлена принадлежность изолятов энтомопатогенных грибов к четырём видам: *Beauveria bassiana*, *B. pseudobassiana*, *Lecanicillium attenuatum* и *Isaria farinosa*. Проведено испытание коллекционных культур грибов *B. bassiana* и *I. farinosa* против имаго уссурийского полиграфа в условиях 100% RH и разных температур: 15 °C и 5 °C. Уровень смертности *P. proximus* достигал 80–100% в течение 45 суток. В условиях 15 °C более эффективным был гриб *B. bassiana*, тогда как при 5 °C – *I. farinosa*.

Ключевые слова: *Polygraphus proximus*, инвазия, короед, энтомопатогенные грибы, биологический контроль.

Введение

Инвазия уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. стала одним из самых ярких примеров распространения чужеродных насекомых в Сибири за последнее время, повлекшего за собой целый каскад последствий в естественных лесных экосистемах [Baranchikov et al., 2010; Баранчиков, Кривец, 2010; Кривец, 2012; Кривец и др., 2015а]. В результате стремительной экспансии *P. proximus*, практически треть всего ареала пихты сибирской *Abies sibirica* Ledeb. – новой для него кормовой породы [Кривец и др., 2015б], охвачена формирующимися или уже затухающими в связи с истощением кормовой базы очагами массового размножения этого инвазионного лубоеда. Как и прочие короеды, *P. proximus* ведёт скрытный образ жизни, из-

за чего использование химических пестицидов в борьбе с ним весьма затруднено. Кроме того, использование химических пестицидов опасно для аборигенных нецелевых видов, в том числе, насекомых-энтомофагов. В итоге единственным доступным инструментом контроля численности вредителя, имеющимся на вооружении у лесоохранных служб, являются санитарные рубки. Однако ландшафтные особенности мест произрастания пихтарников, водоохраный режим и административные барьеры [Кривец и др., 2013] зачастую делают проведение санитарных мероприятий невозможным или несвоевременным. В связи со сложившейся ситуацией возникает необходимость разработки эффективных мер сдерживания численности чужеродного вредителя, в частности, биологических методов борьбы.

Перспективность микробиологического метода борьбы подтверждается уже имеющимися успехами применения стратегии сдерживания видов-вселенцев, например, непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. – инвазионного для Северной Америки вредителя древесных растений, с использованием интродуцированного энтомопатогенного гриба *Entomophaga maimaiga* [Hajek, 2004; Hajek, Tobin, 2011]. Активно ведётся разработка методов регуляции численности с помощью энтомопатогенных грибов и таких опаснейших чужеродных стволовых дендрофагов, как азиатский усач *Anaplophora glabripennis* Motsch. [Shanley, Hajek, 2008; Hu et al., 2009] и большой еловый лубоед *Dendroctonus micans* Kug. [Kocacevik et al., 2015].

Ряд исследований экологии уссурийского полиграфа затрагивает его взаимоотношения с симбиотическими фитопатогенными аскомицетами [Ohtaka et al., 2006; Пашенова и др., 2011, 2012]. В то же время, видовой состав энтомопатогенных грибов, поражающих *P. proximus*, и его восприимчивость к ним ранее не изучались.

Одним из наиболее распространённых энтомопатогенных грибов, в том числе среди Scolytinae, является *Beauveria bassiana* sensu lato [Zimmermann, 2007; Castrillo et al., 2011, 2013]. Для широкого круга короедов он является одним из важнейших факторов смертности, и считается одним из самых перспективных энтомопатогенов для биологического контроля стволовых вредителей [Pora et al., 2012, Steinwender et al., 2010]. Другим широко распространённым видом в лесных биоценозах является гриб *Isaria farinosa*, который также отмечен среди патогенов Scolytinae [Zimmermann, 2008]. Следует отметить, что эти виды грибов, по всей видимости, имеют разные температурные предпочтения. Известно, что большинство штаммов *B. bassiana* имеет лимиты роста от 5 до 37 °C, а их вирулентность (способность вызывать гибель тест-объектов) максимальна при 20–28 °C [Fargues et al., 1997; Bidochka et al., 2002; Kryukov et al., 2012]. Культуры *I. farinosa*, по всей видимости, более психротолерантны,

чем *B. bassiana*. Они имеют диапазон мицелиального роста в пределах 2–32 °C [Zimmermann, 2008]. Кроме того, показано что, культуры *I. farinosa* могут вызывать смертность насекомых при весьма низких температурах: 2–5 °C [Doberski, 1981]. Данные экологические особенности грибов позволяют моделировать патогенезы в гигротермических режимах, имитирующих начало набора эффективных температур и момент инициации весеннего лёта *P. proximus*.

В задачи данного исследования входило: определение видового состава возбудителей микозов уссурийского полиграфа во вторичном ареале и оценка вирулентности изолятов *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv) Vuill и *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. в условиях разных термических режимов (в разделах «Материал и методика», «Результаты», «Обсуждение» не упоминаются различия по влажности).

Материал и методика

Выделение и идентификация патогенов

Изучение видового состава грибных энтомопатогенов уссурийского полиграфа проводилось с использованием материалов, собранных в очаге массового размножения в Ларинском ландшафтном заказнике в Томской области. Мёртвые имаго и личинки уссурийского полиграфа были собраны из-под коры погибших деревьев пихты. Выделение грибов из трупов короеда проводилось общепринятыми методами на среды Сабуро и Ваксмана [Бойкова, Новикова, 2001].

Определение грибов до уровня рода, а также до уровня вида (у чётко идентифицируемого *I. farinosa*) проводилось путём световой микроскопии [Леднёв и др., 2003]. Близкие виды из родов *Beauveria* и *Lecanicillium* идентифицировались путём секвенирования экзонного участка гена фактора элонгации (EF1 β) [Rehner et al., 2011] с последующим BLAST-анализом на сервере Генбанка [BLAST, 2016]. Дендрограмма построена на основе метода Neighbor-Joining. В качестве референтных сиквенсов использованы доступные в Генбанке записи из ранее опубликованных работ [Sung et al., 2007; Rehner et al., 2011].

Биотестирование

Для заражения насекомых были использованы штаммы из коллекции Института систематики и экологии животных СО РАН. В частности использованы культуры *B. bassiana* s.s. SAR-31 и *I. farinosa* DXN-2. Выбор музейных штаммов, а не культур, изолированных из трупов уссурийского полиграфа, был связан с их стабильными морфолого-культуральными свойствами, высокой продуктивностью конидий и высокой биологической активностью данных изолятов против насекомых из разных систематических групп (в том числе Coleoptera) [Kryukov et al., 2010]. Для сравнения вирулентности культур в разных термических режимах был взят штамм *I. farinosa* DXN-2. Конидии грибов были получены путём смыва с поверхности спорулирующего воздушного мицелия, выращенного на агаризованной среде Сабуро в течение трёх недель. Конидии суспендировали в воде с добавлением эмульгатора твин-20 (0.03%). Рабочие суспензии для заражения жуков использованы в концентрациях $5 \cdot 10^5$, $5 \cdot 10^6$ и $5 \cdot 10^7$ конидий/мл. Титры были определены с помощью гемоцитометра.

Для биотестов использовались имаго уссурийского полиграфа, собранные в сентябре 2015 г. в окрестностях г. Томска ($56^{\circ}27'45''N$; $85^{\circ}05'25''E$) с деревьев, усохших в течение лета того же года. Насекомые были собраны вместе с корой и в течение 15 дней до проведения заражения хранились в термостате при температуре $+5^{\circ}C$ и 100% RH. Инфицирование жуков проводилось путём погружения в суспензию конидий на 10 с. Контрольная группа насекомых погружалась в водно-твинный раствор. Сразу после погружения жуки отбрасывались на фильтровальную бумагу для удаления лишней влаги. Затем насекомых помещали в 60 мм чашки Петри (10 особей на 1 чашку). В эти же чашки помещали кору пихты, из которой ранее извлекались жуки, а также увлажнённые диски фильтровальной бумаги для создания 100% RH. Чашки Петри с насекомыми инкубировались в темноте при постоянных температурах 5 и $15^{\circ}C$. Учёт смертности проводился ежедневно в течение 45

суток. В каждом варианте эксперимента участвовало не менее 40 особей (4 повторности по 10 особей). Мёртвые насекомые для регистрации гибели, вызванной микозом, выкладывались в чашки Петри на увлажнённую фильтровальную бумагу. Анализ динамики смертности проводился методом Каплана-Майера с последующей оценкой существенных различий на основе Log-rank теста (SigmaStat 3.1.). Кроме того, полученные значения 75%-й выживаемости (ST_{75}) были проанализированы с помощью дисперсионного анализа (Main effect ANOVA, Statistica, 8).

Результаты

Идентификация грибов

Микроскопический анализ 17 изолятов энтомопатогенных грибов, выделенных из *P. proximus*, показал их принадлежность к *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. (3 изолята), *Beauveria* (12 изолятов) и *Lecanicillium* (2 изолята). Для двух последних представителей проведена молекулярно-генетическая идентификация (рис. 1). Анализ нуклеотидных последовательностей региона EF16 показал принадлежность культур рода *Beauveria* к *B. pseudobassiana* S.A. Rehner & Humber 2011 (11 изолятов) и *B. bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (1 изолят). При этом культуры *B. pseudobassiana* представлены двумя гаплотипами, соответствующими гомологичным последовательностям штаммов ARSEF 6229, номер доступа в Генбанке HQ881001/ (штаммы L-2, Z-2, Z-6,) и ARSEF 2997, номер доступа в Генбанке HQ881000 (штаммы L-3, L-4, L-6, L-7, L-9, Z-1, Z-3, Z-4). При этом штаммы L-9, Z-1, Z-3 и Z-6 имеют сходство с референтными штаммами на 99%, остальные культуры – на 100%. Изолят Z-8 имеет 100%-е сходство с типовым штаммом ARSEF 1564 (HQ880974) [Rehner et al., 2011]. Анализ региона EF16 двух изолятов рода *Lecanicillium* (I-1 и Z-5) показал их идентичность друг другу и сходство на уровне 99.8% (что соответствует одной замене на 450 нуклеотидов) с типовым штаммом *L. attenuatum* CBS 402.78 (EF468782) из листового опада сахарного клёна *Acer saccharum* [Zare, Gams, 2001; Sung et al., 2007]. Соответствующий сик-

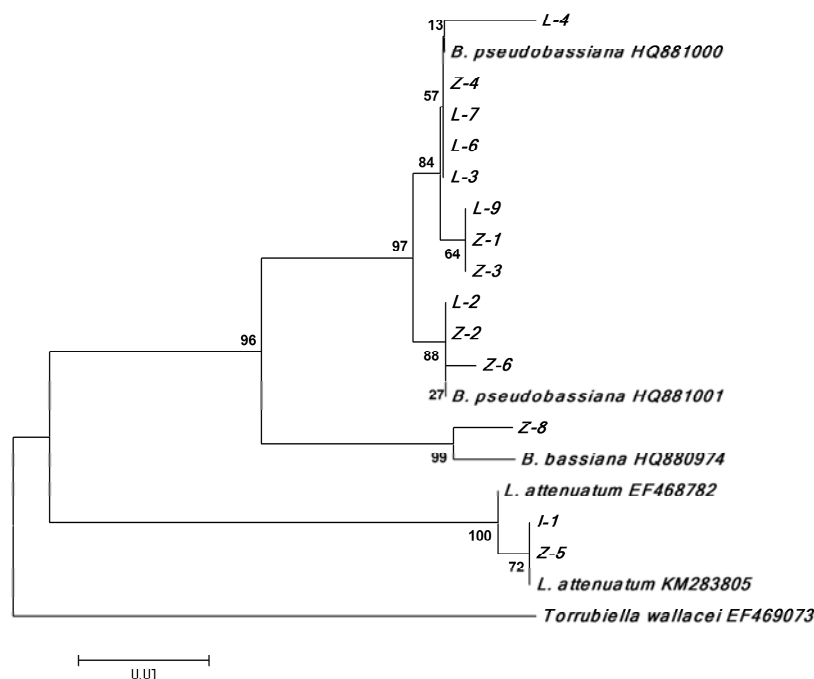


Рис. 1. Дендрогрaмма сходства изолятов энтомопатогенных грибов *Beauveria* и *Lecanicillium* из уссурийского полиграфа, построенная методом ближайшего соседа на основе нуклеотидных последовательностей гена фактора элонгации EF-1б. Цифрами показаны значения поддержки (N=1000).

венс *L. attenuatum* КАСС 43049 (KM283805) из ржавчинного гриба *Coleosporium phello-dendri* совпадает с сиквенсами на 100%.

Биотестирование

Тестирование изолятов *B. bassiana* и *I. farinosa* на биологическую эффективность в отношении имаго *P. proximus* показало, что при исследуемых температурах наблюдается длительный инкубационный период заболевания. Начало массовой гибели насекомых от микозов регистрировалось в период с 8-х по 28–30-е сутки в зависимости от штамма гриба, концентрации конидиальной суспензии и температуры инкубации (рис. 2). 100%-я смертность регистрировалась не ранее, чем через 18 суток после инокуляции. Гибель в контрольном варианте (насекомые без обработки грибами) в результате микозов не была зафиксирована, и при обеих температурах не превышала 25–26% на 45-е сутки эксперимента. При более низкой температуре (5 °С) смертность жуков от грибов обоих видов наступала позднее, чем при более высокой (15 °С) ($F_{1,7} = 12.8$, $p = 0.009$). Установлено, что *B. bassiana* проявляет более высокую вирулентность, по сравнению с *I. farinosa*, при температуре 15 °С.

Напротив, *I. farinosa* более активна при низкой температуре (5 °С), по сравнению с *B. bassiana*. В частности, более высокая скорость гибели от *B. bassiana* по сравнению с *I. farinosa* при 15 °С отмечалась после заражения низкой ($5 \cdot 10^5$) и средней ($5 \cdot 10^6$) концентрациями ($\chi^2=5.8$, $P=0.016$ и $\chi^2=15.2$, $P<0.0001$, соответственно). После заражения высокой концентрацией ($5 \cdot 10^7$) данные различия были сходными, но на уровне тенденции ($\chi^2=3.5$, $P = 0.06$). При 5 °С более высокая вирулентность *I. farinosa* по сравнению с *B. bassiana* отмечена при высокой ($5 \cdot 10^7$) и средней ($5 \cdot 10^6$) концентрациях конидий ($\chi^2=15.4$, $P<0.0001$ и $\chi^2=23.7$, $P<0.0001$, соответственно), но при минимальных дозах ($5 \cdot 10^5$) из-за низкой гибели различия оказались не существенными ($\chi^2=2.7$, $P=0.09$). Следует отметить, что уровень вирулентности обеих культур без учёта фактора температуры достоверно не отличался ($F_{1,7} = 0.30$, $p=0.60$).

Обсуждение

Нами выявлено 4 вида энтомопатогенных грибов, циркулирующих в популяциях *P. proximus*. Данные паразиты характеризуются относительно широкой гостальной специфичнос-

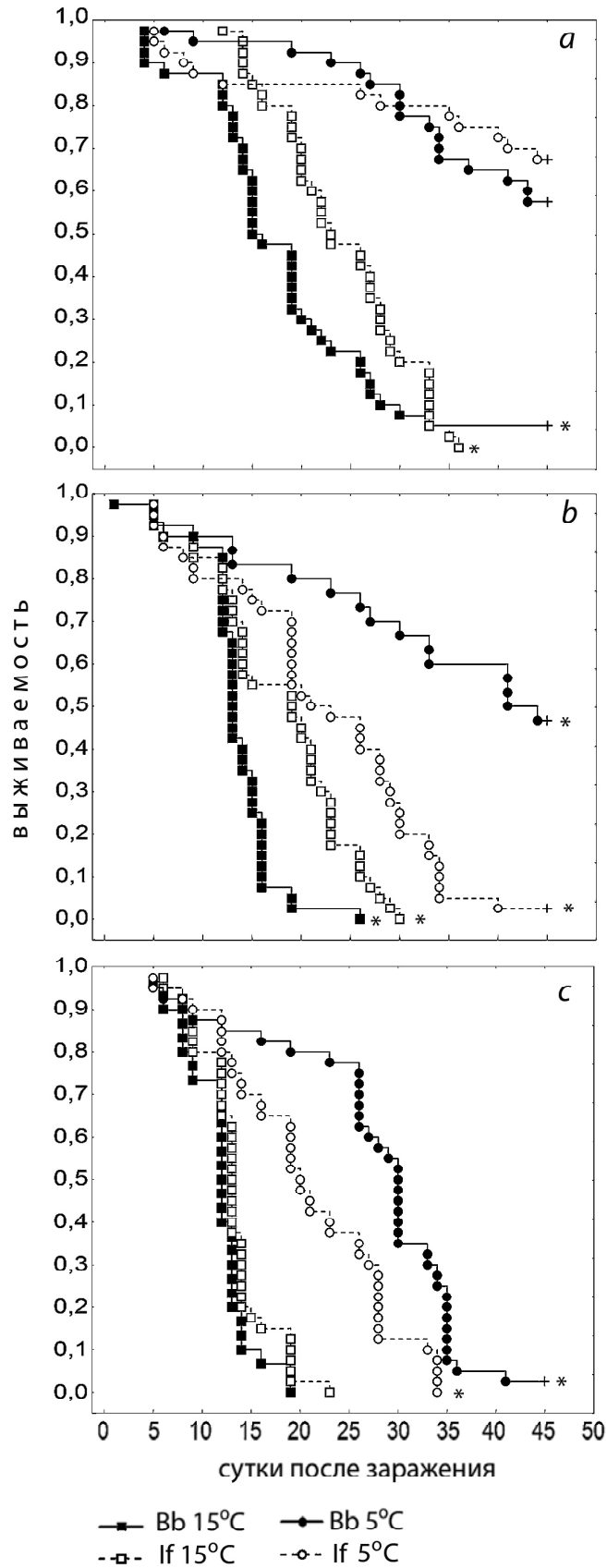


Рис. 2. Динамика выживаемости имаго уссурийского полиграфа при 5 °С и 15 °С после инокуляции грибами *B. bassiana* (Bb) и *I. farinosa* (If) в дозах $5 \cdot 10^5$ (а), $5 \cdot 10^6$ (б) и $5 \cdot 10^7$ (в) конидий/мл. * – достоверные отличия ($P < 0.05$) между *B. bassiana* и *I. farinosa* внутри одного титра и одной температуры (Log-Rank test). Выживаемость в контрольных вариантах – 74–75% к 45-м суткам эксперимента.

тью, поражая представителей различных отрядов насекомых, и космополитическим распространением, что позволяет предположить их наиболее вероятную принадлежность к местной микобиоте, в отличие от фитопатогенов, проникших из первичного ареала в тандеме с короедом [Пашенова и др., 2011]. Наиболее часто в популяциях инвазионного короеда обнаруживались представители рода *Beauveria*. Это повсеместно распространённые патогены членистоногих, имеющие обширный круг хозяев [Zimmermann, 2007; Rehner et al., 2011]. В большинстве случаев гибель уссурийского полиграфа была вызвана грибом *B. pseudobassiana*, который, в отличие от реже встречавшегося *B. bassiana*, имеет более выраженную приуроченность к лесным биотопам [Lednev et al., 2014]. *B. bassiana sensu stricto*, согласно литературным источникам, значительно чаще указывается в качестве возбудителя микозов у короедов, чем другие виды [Wegensteiner et al., 2015]. Тем не менее, штамм *B. pseudobassiana* ARSEF 9271, выделенный из инвазионного стволового вредителя *Dendroctonus micans* Kug. в Турции, показал высокую вирулентность по отношению к данному виду [Kosacevik et al., 2016]. Авторы отмечают значительную перспективность указанного штамма для использования в борьбе с этим агрессивным стволовым вредителем.

Другим распространённым патогеном в популяции *P. proximus* на территории Западной Сибири оказался *Lecanicillium attenuatum*. Род *Lecanicillium* включает в себя виды, которые являются космополитными возбудителями микозов, но наиболее известны как патогены Номоптера, поэтому ранее рассматривались преимущественно в качестве потенциальных агентов биологического контроля тлей и белокрылок [Огарков, Огаркова, 2000; Kim, Kim, 2008; Kim et al., 2009; и др.]. Согласно данным И. Лиал с соавторами [Leal et al., 2008], *L. attenuatum* отмечался в качестве возбудителя микозов смолёвки веймутовой сосны *Pissodes strobi* (Peck) (Coleoptera, Curculionidae) – карантинном для территории РФ североамериканском стволовом вредителе сосен. Также ранее была показана вирулентность *Lecanicil-*

lium lecanii s.l. в отношении переносчика голландской болезни вязов, ильмового заболонника *Scolytus scolytus* (Coleoptera, Scolitydae) [Baiazy, 1963; Barson, 1976].

Гриб *I. farinosa* также является широко распространённым энтомопатогеном [Zimmermann, 2008]. Наряду с открытоживущими насекомыми, *I. farinosa* зачастую поражает и стволовых дендрофагов. Например, изоляты *I. farinosa* отмечались в качестве возбудителей микозов агрессивного инвазионного вредителя ясеней, златки *Agrilus planipennis* Fairmaire в Канаде. Однако эффективность этого патогена оказалась значительно ниже коммерческих изолятов *Beauveria* и *Metarhizium* [Johny et al., 2012].

Ранее проводимые учёты причин смертности уссурийского полиграфа в инвазионных очагах позволили установить, что энтомопатогенные грибы могут вызывать 20–30%-ю гибель короеда в естественных условиях [Керчев, 2013]. Наибольшая смертность наблюдалась среди молодых имаго во влажных микростациях. Подобные наблюдения приводятся и для других видов короедов [Wegensteiner et al., 2015]. Личинки и куколки также подвержены микозам, но всё же в меньшей степени. Объяснить это можно несколькими причинами: личинки прокладывают ходы преимущественно изолированно друг от друга и по мере питания удаляются от материнской галереи (единственного сообщения с внешней средой), изолируют себя от неё плотно утрамбованными экскрементами. Горизонтальной трансмиссии патогенов среди молодых жуков может способствовать перфорация луба в результате их дополнительного питания и нарушение целостности коры. Заражению молодых имаго также способствует нарастание численности под корой деревьев потенциальных переносчиков пропагул патогенов (клещей, нематод, коллембол), достигающей максимальных значений к моменту отрождения молодых жуков.

При тестировании изолятов *B. bassiana* и *I. farinosa* на имаго *P. proximus* наблюдался длительный инкубационный период заболевания. Гибель *P. proximus* от грибных патогенов началась на 8–28-е сутки и достигла 100% к 45-м суткам эксперимента. Аналогичные ре-

зультаты были получены при проведении лабораторных биотестов на фоне, имитирующем условия гибернации, для короеда-типографа [Hallet et al., 1994]. В эксперименте после обработки конидиями гриба *B. bassiana* подстилки, в которой находились жуки, была достигнута более чем 70%-я смертность при 20, 17 и 12 °C через 28, 35 и 41 день, соответственно [Hallet et al., 1994].

Вирулентность исследуемых патогенов оценивалась ранее на разных видах короедов, при этом изоляты *B. bassiana* показывали более высокую вирулентность. Однако, необходимо отметить, что тестирование проводилось преимущественно при температурах 20 °C и выше. Так в работах Дж.В. Доберски [Doberski, 1981] изоляты *B. bassiana* были более патогенны для личинок и взрослых жуков ильмового заболонника *S. scolytus* в сравнении с *I. farinosa*. При испытаниях на шестизубчатом короеде *Ips sexdentatus* Voern. использование *B. bassiana* приводило к 90%-й смертности, против 45–66%-й для *I. farinosa* [Draganova et al., 2007]. В нашем исследовании была установлена статистически значимая зависимость активности двух испытываемых грибов от температурных условий. При инкубации в температурных условиях 15 °C жуки, подвергшиеся обработке конидиями *B. bassiana*, погибали значительно раньше, чем от *I. farinosa*. При низких же температурах (5 °C) обработка грибом *I. farinosa* приводила к более ранней и более высокой смертности жуков по сравнению с *B. bassiana*. Это подтверждает ранее полученные результаты о более высокой психротолерантности *I. farinosa* по сравнению с *B. bassiana* [Doberski, 1981, Zimmermann, 2008] и позволяет предложить культуры грибов для биологического контроля исследуемого дендрофага. Так, в ранневесенний и осенний периоды после гибернации жуков и перед ней более перспективным будет использование *I. farinosa*, тогда как при термическом режиме, при котором проходит массовый лёт жуков *P. proximus* [Керчев, 2014], более эффективным будет использование *B. bassiana*.

Данная работа – первое исследование видового состава и вирулентных свойств энтомо-

патогенных грибов инвазионного короеда *P. proximus*. Последующие исследования должны быть направлены на детальное изучение механизмов горизонтального переноса энтомопатогенных грибов в популяциях *P. proximus*, и разработки методов регуляции численности дендрофага.

Выводы

В Западной Сибири у *P. proximus* выявлено 4 вида энтомопатогенных грибов *B. bassiana*, *B. pseudobassiana*, *L. attenuatum* и *I. farinosa*, характеризующихся широким распространением и широким кругом хозяев.

Обработка штаммами грибов *B. bassiana* и *I. farinosa* показала высокий уровень смертности имаго *P. proximus* (до 80–100%) даже при низких температурах (5 °C). Данный факт очень важен, поскольку этот чужеродный вид – один из самых ранних среди стволовых дендрофагов весенней фенологической группы.

При константной температуре 15 °C в отношении *P. proximus* наиболее вирулентен *B. bassiana*, тогда как при 5 °C – *I. farinosa*.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-14-10014).

Литература

- Баранчиков Ю.Н., Кривец С.А. О профессионализме при определении насекомых: как просмотрели появление нового агрессивного вредителя пихты в Сибири // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий: Мат-лы XIV междунар. конф.: В 2 т. / Отв. ред. В.В. Анюшин. Абакан: Изд-во ГОУ ВПО ХГУ им. Н.Ф. Катанова. 2010. Т. 1, вып. 14. С. 50–52.
- Бойкова И.В., Новикова И.И. Выделение энтомопатогенных дейтеромицетов. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / Под ред. В.В. Глупова. М.: Круглый год, 2001. С. 698–708.
- Керчев И.А. Экология уссурийского полиграфа *Poligraphus proximus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) в западносибирском регионе инвазии: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Томск, 2013. 24 с.
- Керчев И.А. Экология полиграфа уссурийского *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) в западносибирском регионе инвазии // Российский журнал биологических инвазий. 2014. Т. 7. № 2. С. 80–95.

- Кривец С.А. Заметки по экологии уссурийского полиграфа в Западной Сибири // Известия Санкт-Петербургской государственной лесотехнической академии. СПб.: СПбГЛТУ, 2012. Вып. 200. С. 94–105.
- Кривец С.А., Баранчиков Ю.Н., Пашенова Н.В., Бисирова Э.М., Керчев И.А., Петько В.М., Пац Е.Н., Чернова Н.А. Роль инвазийного дендрофага *Polygraphus proximus* Blandf. в современных процессах деградации пихтовых лесов в Южной Сибири // Биоразнообразие, проблемы экологии Горного Алтая и сопредельных регионов: настоящее, прошлое, будущее: Материалы III международной конференции, Горно-Алтайск, 1–5 октября 2013 г. Горно-Алтайск: ГАГУ, 2013. С. 262–266.
- Кривец С.А., Бисирова Э.М., Керчев И.А., Пац Е.Н., Чернова Н.А. Трансформация таёжных экосистем в очаге инвазии полиграфа уссурийского *Polygraphus proximus* Blandf. (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) в Западной Сибири // Российский журнал биологических инвазий. 2015а. Т. 8. № 1. С. 41–63.
- Кривец С.А., Керчев И.А., Бисирова Э.М., Демидко Д.А., Петько В.М., Баранчиков Ю.Н. Распространение уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) в Сибири // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2015б. № 211. С. 33–45.
- Леднёв Г.Р., Борисов Б. А., Митина Г.В. Возбудители микозов насекомых: Пособие по диагностике. СПб.: ВИЗР, 2003. 79 с.
- Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р. Энтомопатогенные грибы Восточной Сибири. Иркутск: Изд-во Иркутского университета, 2000. 132 с.
- Пашенова Н.В., Баранчиков Ю.Н., Петько В.М. Агрессивные офиостомовые грибы из ходов полиграфа уссурийского // Защита и карантин растений. 2011. № 6. С. 31–33.
- Пашенова Н.В., Петько В.М., Керчев И.А., Бабичев Н.С. Перенос офиостомовых грибов уссурийским полиграфом *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera, Scolytidae) в Сибири // Известия СПбЛТА. 2012. Вып. 200. С. 213–220.
- Baiazy S. The fungus *Cephalosporium (Acrostalagmus) lecanii* Zimm., a pathogen of beetle larvae // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 1963. 32. P. 69–80.
- Baranchikov Y., Akulov E., Astapenko S. Bark beetle *Polygraphus proximus*: a new invader on Abies species in Siberia and European Russia [Text] // Proceedings. 21st U.S. Department of Agriculture Interagency research forum on invasive species 2010; Annapolis, MD // Gen. Tech. Rep. NRS-P-75. Newtown Square, PA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station. 2010. P. 64–65.
- Barson G. Laboratory studies on the fungus *Verticillium lecanii*, a larval pathogen of the large elm bark beetle (*Scolytus scolytus*) // Annals of Applied Biology. 1976. 83. P. 207–214.
- Bidochka M.J., Menzies F.V., Kamp A.M. Genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* are associated with habitat and thermal growth preferences // Arch. Microbiology. 2002. Vol. 178. № 6. P. 531–537.
- BLAST // (). Проверено 1.11.2016 г.
- Castrillo L.A., Griggs M.H., Ranger C.M., Reding M.E., Vandenberg J. D. Virulence of commercial strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* (Ascomycota: Hypocreales) against adult *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae) and impact on brood // Biological Control. 2011. 58. P. 121–126.
- Castrillo L.A., Griggs M.H., Vandenberg J.D. Granulate ambrosia beetle, *Xylosandrus crassiusculus* (Coleoptera: Curculionidae), survival and brood production following exposure to entomopathogenic and mycoparasitic fungi // Biological Control. 2013. 67. P. 220–226.
- Doberski J.W. Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle, *Scolytus scolytus*: Pathogenicity of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus* to larvae and adults of *S. scolytus* // Journal of Invertebrate Pathology. 1981. 37. P. 188–194.
- Draganova S., Takov D., Doychev D. Bioassays with isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces farinosus* (Holm.) Brown & Smith against *Ips sexdentatus* Boerner and *Ips acuminatus* Gyll. (Coleoptera: Scolytidae) // Plant Science. 2007. 44. P. 24–28.
- Fargues J., Goettel M.S., Smits N., Ouedraogo A., Rougier M. Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins // Mycologia. 1997. Vol. 89. № 3. P. 383–392.
- Hajek A.E. Natural enemies. An introduction to biological control. Cornell University, New York. 2004. 396 p.
- Hajek A.E., Tobin P.C. Introduced pathogens follow the invasion front of a spreading alien host // Journal of Animal Ecology. 2011. 80. P. 1217–1226.
- Hallet S., Grigoire J.-C., Coremans-Pelseneer J. Prospects in the use of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes: Hyphomycetes) to control the spruce bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera: Scolytidae) // Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent. 1994. 59. S. 379–383.
- Hu J., Angeli S., Schuetz S., Luo Y., Hajek A.E. Ecology and management of exotic beetle *Anoplophora glabripennis* // Agricultural and Forest Entomology 2009. Vol. 11. P. 359–375.
- Johny S., Kyei-Poku G., Gauthier D., Van Frankenhuyzen K. Isolation and characterisation of *Isaria farinosa* and *Purpureocillium lilacinum* associated with emerald ash borer, *Agrilus planipennis* in Canada // Biocontrol science and technology. 2012. Vol. 22. No. 6. P. 723–732.
- Kim H.Y., Lee H.B., Kim Y.C. Laboratory and field evaluations of entomopathogenic *Lecanicillium attenuatum* CNU-23 for control of green peach aphid (*Myzus persicae*) // Journal of microbiology and biotechnology. 2009. 18(12). P. 1915–8.

- Kim J.-J.; Kim K.-C. Selection of a highly virulent isolate of *Lecanicillium attenuatum* against cotton aphid // Journal of Asia-Pacific Entomology. 2008. Vol. 11, № 1. P.1–4.
- Kocacevik S, Sevim A, Eroglu M, Demirbag Z, Demir I. Molecular characterization, virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* from *Dendroctonus micans* (Kug.) (Coleoptera: Curculionidae) // Journal of Applied Entomology. 2015. 139. P. 381–389.
- Kocacevik S., Sevim A., Eroglu M, Demirbag Z, Demir I. Virulence and horizontal transmission of *Beauveria pseudobassiana* S.A. Rehner & Humber in *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae) // Turkish Journal of Agriculture and Forestry 2016. 40. P. 1–8.
- Kryukov V.Yu., Yaroslavtseva O.N., Levchenko M.V., Lednyov G.R., Glupov V.V. Phenotypic Variability of Environmental Isolates of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* // Microbiology (Moscow). 2010. Vol. 79. No. 2. P. 265–269.
- Kryukov V.Yu., Yaroslavtseva O.N., Elisaphenko E.A., Mitkovets P.V., Lednev G.R., Duisembekov B.A., Zakiyan S.M., Glupov V.V. Change in the Temperature Preferences of *Beauveria bassiana* sensu lato isolates in the Latitude Gradient of Siberia and Kazakhstan // Microbiology (Moscow). 2012. Vol. 81. No. 4. P. 453–459.
- Leal I., Alfaro R.I., Young W.L., Kope H.H. Molecular characterization of the entomopathogenic fungi *Lecanicillium spp.* (Deuteromycota: Hyphomycetes) isolated from white pine weevil, *Pissodes strobi* (Coleoptera: Curculionidae), in British Columbia // Can. Entomol. 2008. Vol. 140. P. 168–173.
- Lednev G., Tokarev Y., Uspanov A., Malyshev J., Duisembekov B., Sabitova M., Levchenko M., Smagulova S., Orazova S., Amanov S., Sagitov A. Molecular criteria for screening of *Beauveria* strains used for insect pest control. // Journal of Biotechnology. 2014. 185. P. 63–64.
- Ohtaka N., Masuya H., Yamaoka Y., Kaneko S. Two new *Ophiostoma* species lacking conidial states isolated from bark beetles and bark beetle-infested *Abies* species in Japan // Canadian Journal of Botany. 2006. № 84. P. 282–293.
- Popa V., Dèziel E., Lavallée Bauce E., Guertin C. The complex symbiotic relationships of bark beetles with microorganisms: a potential practical approach for biological control in forestry // Pest Management Science. 2012. 68. P. 963–975.
- Rehner S.A., Minnis A.M., Sung G.H., Luangsa-ard J.J., Devotto L., Humber R.A. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria* // Mycologia. 2011. 103(5). P. 1055–1073.
- Shanley R.P., Hajek A.E. Environmental contamination with *Metarhizium anisopliae* from fungal bands for control of the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) // Biocontrol science and technology. 2008. 18(2) P. 109–120.
- Steinwender B., Krenn H., Wegensteiner R. Different effects of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota) on the bark beetle *Ips sexdentatus* (Coleoptera: Curculionidae) and on its predator *Thanasius formicarius* (Coleoptera: Cleridae) // Journal Plant Diseases Protection. 2010. 117. P. 33–38.
- Sung G.H., Hywel-Jones N.L., Sung J.M., Luangsa-Ard J.J., Shrestha B., Spatafora J.W. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi // Journal Studies in Mycology. 2007. 57. P. 5–59.
- Wegensteiner R., Wermelinger B., Herrmann M. Natural Enemies of Bark Beetles: Predators, Parasitoids, Pathogens, and Nematodes // Chapter 7 in: Bark Beetles. Biology and Ecology of Native and Invasive Species. Eds. F.E. Vega, R.W. Hofstetter. San Diego: Academic Press, 2015. P. 247–304.
- Zare R., Gams W. A revision of *Verticillium* section Prostrata. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen // Nova Hedwigia. nov. 2001. 73. P. 1–50.
- Zimmermann G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii* // Biocontrol science and technology. 2007. 17. P. 553–596.
- Zimmermann G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (Formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control // Biocontrol science and technology. 2008. 18. P. 865–901.

THE FIRST DATA ON FUNGAL PATHOGENS (ASCOMYCOTA, HYPOCREALES) IN THE INVASIVE POPULATIONS OF FOUR-EYED FIR BARK BEETLE *POLYGRAPHUS PROXIMUS* BLANDF.

© 2015 Kerchev I.A.^{1*}, Kryukov V.Yu.¹, Yaroslavtseva O.N.¹, Polovinko G.P.¹,
Tokarev Yu.S.^{2**}, Glupov V.V.¹

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals of SB of the RAS
Novosibirsk 630091;

²All-Russian Research Institute of Plant Protection
St.Petersburg, Pushkin 196608;

e-mail: * ivankerchev@gmail.com; ** jumacro@yahoo.com

The population of the invasive pest of Siberian fir four-eyed fir bark beetle *Polygraphus proximus* Blandf. (FFBB) from Western Siberia was examined for the presence of insect pathogenic ascomycetes. Four species of insect pathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *B. pseudobassiana*, *Lecanicillium attenuatum* and *Isaria farinosa*, were detected basing on morphological characteristics and/or sequencing data. Bioassays using conidia of fungi *B. bassiana* and *I. farinosa* from collection of ISEA SB RAS were performed against adults of FFBB under different temperatures (15 °C and 5 °C) and 100% RH. The mortality of *P. proximus* reached 80–100% within 45 days. The fungus *B. bassiana* was more effective at the 15 °C as compared to 5 °C. Contrarily, *I. farinosa* was more virulent at 5 °C.

Key words: *Polygraphus proximus*, invasion, bark beetle, insect pathogenic fungi, biological control.