

**Сержанова С.¹, Рахимбаева С.²,
Тулебаева Д.³, Успанова А.⁴, Успанов А.⁵,
Дуйсембеков Б.⁶, Оразова С.⁷**

¹студент магистратуры кафедры молекулярной биологии и генетики, e-mail: saponya2823@gmail.com

^{2,3}студент бакалавриата кафедры биотехнологии

⁴студент магистратуры кафедры биотехнологии

⁵кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологии, e-mail: u_alibek@mail.ru

⁶кандидат биологических наук, зам. директора по науке

⁷кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биотехнологии,
e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

^{1,2,3,4,6} Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

^{5,6} Казахский научно-исследовательский институт защиты и
карантина растений имени Ж. Жиёмбаева, Казахстан, г. Алматы

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ
ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ГРИБА
BEAUVERIA BASSIANA, ПЕРСПЕКТИВНЫХ
ДЛЯ СОЗДАНИЯ МИКОИНСЕКТИЦИДОВ**

Одним из способов подавления вредных фитофагов является микробиологический метод защиты. Энтомопатогенные грибы являются перспективными агентами биологического контроля в борьбе с насекомыми – вредителями сельского и лесного хозяйства. Биопрепараты, на основе энтомопатогенных грибов *Beauveria bassiana*, приводят к массовому размножению и распространению, вследствие чего, возникают эпизоотии. Широкий спектр биологической активности аскомицета *Beauveria bassiana* и безопасность в отношении животных, людей и растений позволяет использовать микоинсектициды на основе данного гриба в сельском и лесном хозяйстве. Азиатская саранча, колорадский жук и короед Гаузера обладают высокой чувствительностью к культурам грибов, выделенных с жуков-короедов. Для данных вредителей характерна схожая восприимчивость к энтомопатогенному грибу *Beauveria bassiana*. Основная цель работы – оценка биологической активности изучаемых штаммов на насекомых из разных систематических групп, а также оценка мицелиального роста в температурном диапазоне 15-30°C у изолятов энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*. В качестве перспективных штаммов-продуцентов для производства микоинсектицида отобраны два новых штамма гриба рода *Beauveria*, обладающих достаточно высокой вирулентностью в отношении тест-насекомых. Кроме того, для исследованных культур грибов определены температурные преферендумы и подобраны оптимальные титры рабочей суспензии.

Ключевые слова: энтомопатогенный гриб, *Beauveria bassiana*, вирулентность, термотолерантность, микоинсектицид.

Serzhanova S.¹, Rakhimbaeva S.², Tulebaeva D.³, Uspanova A.⁴,
Uspanov A.⁵, Duisembekov B.⁶, Orazova S.⁷

¹master-student of Molecular Biology and Genetics Department, e-mail: saponya2823@gmail.com

^{2,3}bachelor-student of Biotechnology Department

⁴master-student of Biotechnology Department

⁵candidate of biological sciences, head of biotechnology laboratory, e-mail: u_alibek@mail.ru

⁶candidate of biological sciences, deputy director on science

⁷candidate of biological sciences, senior lecturer of Biotechnology Department, e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

^{1,2,3,4,6}Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

^{5,6}Kazakh Scientific Research Institute of Plant Protection and Quarantine
named after Zh. Zhyembaev, Kazakhstan, Almaty

Biological features of entomopathogenic fungi strains *Beauveria bassiana*, perspective for the creation of mycoinsecticides

One of the ways to suppress harmful phytophages is a microbiological method of protection. Entomopathogenic fungi are promising agents of biological control in the fight against insects – pests of agriculture and forestry. Biopreparations, based on entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, lead to mass reproduction and distribution resulting in epizootics occurrence. A wide range of biological activity of ascomycete *Beauveria bassiana* and a safety in relation to animals, humans and plants allows the use of mycoinsecticides based on the fungi in agriculture and forestry. The migratory locust, the Colorado beetle and *Ips hauseri* are highly sensitive to fungi cultures isolated from the bark beetles. A similar susceptibility to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is observed among these pests. The main purpose of the work is to assess the biological activity of the studied strains on insects from different systematic groups, as well as the evaluation of mycelial growth in the temperature range of 15–30°C in isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Two new strains of *Beauveria* genus, that have a sufficiently high virulence for test insects, have been selected as a promising producer strains for the production of mycoinsecticides. In addition, temperature preferences are determined for the studied fungal cultures and optimal titers of the working suspension are selected.

Key words: entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, virulence, thermotolerance, mycoinsecticide.

Сержанова С.¹, Рахимбаева С.², Тулебаева Д.³, Успанова А.⁴,
Успанов А.⁵, Дүйсембеков Б.⁶, Оразова С.⁷

¹молекулалық биология және генетика кафедрасының магистратура студенті, e-mail: saponya2823@gmail.com

^{2,3}биотехнология кафедрасының бакалавриат студенті

⁴биотехнология кафедрасының магистратура студенті

⁵биология ғылымдарының кандидаты, биотехнология зертханасының меңгерушісі, e-mail: u_alibek@mail.ru

⁶биология ғылымдарының кандидаты, ғылым бойынша директор орынбасары

⁷биология ғылымдарының кандидаты, биотехнология кафедрасының аға оқытушысы,
e-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

^{1,2,3,4,6}Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

^{5,6}Ж. Жиёмбаев атындағы Қазақ өсімдік қорғау және

карантин ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, Алматы қ.

Микоинсектицидтер жасау үшін *Beauveria bassiana* энтомопатогенді саңырауқұлақ штамдарының биологиялық ерекшеліктері

Зиянды фитофагтарды басудың бір жолы микробиологиялық әдіс. Энтомопатогенді саңырауқұлақтар ауыл және орман шаруашылығындағы зиянкес насекомдармен күресуде биологиялық бақылаудың перспективті агенті болып табылады. Энтомопатогенді саңырауқұлақтар негізіндегі биопрепараттар *Beauveria bassiana* эпизотиидың пайда болу салдарынан жаппай көбейеді және таралады. *Beauveria bassiana* аскомицеттің биологиялық активтілігінің жоғарылығы, жануарлар, адамдар және өсімдіктерге қауіпсіздігі осы саңырауқұлақ негізіндегі микоинсектицидті ауыл және орман шаруашылығында қолдануға мүмкіндік береді. Азиаттық қара шегіртке, колорад қоңызы және Гаузер қабық құрты қоңыз қабық жегілерден бөлініп алынған саңырауқұлақ культураларына жоғары сезімталдық көрсетеді. Бұл зиянкестерге *Beauveria bassiana* энтомопатогенді саңырауқұлақтар культуралықтың ұқсастығы тән. Жұмыстың басты мақсаты әртүрлі систематикалық топтарға жататын насекомдарға зерттелетін штамдардың биологиялық активтілігін бағалау, сонымен қатар, *Beauveria bassiana* энтомопатогенді саңырауқұлақ изоляттарының 15–30°C температура диапазонындағы мицелиальды өсуін бағалау. Микоинсектицид өндірісі үшін штам продуценттер үшін продуценттер ретінде тест насекомдарға жоғары вируленттілік көрсететін *Beauveria bassiana* саңырауқұлағының екі жаңа штамды алынды. Сонымен қатар, зерттелген саңырауқұлақтар культураларының температуралық перифендумды анықталды және жұмыс суспензиясының оптималды титры таңдалынып алынды.

Түйін сөздер: энтомопатогендік саңырауқұлақтар, *Beauveria bassiana*, вируленттілік, термотөзімділік, микоинсектицид.

Введение

Аскомицетовый гриб *Beauveria bassiana* является патогеном сотен видов насекомых и используется в производстве экологически чистого микоинсектицида (Xiao, 2012: 483). На сегодняшний день большинство исследований сосредоточено на гипокрейнных родах *Beauveria*, который является типичным филаментным грибом с высоким потенциалом для борьбы с насекомыми, поскольку его споры относительно легки и недороги для массового производства (Tarocco, 2005: 481; Taylor, 2013: 23; Gouli, 2014: 571). Грибы быстро растут и обладают большой репродуктивной способностью (Donadio, 2012: 187). Кроме того, известно, что он оказывает нетоксичное воздействие на нецелевые организмы, включая животных и людей (Fang, 2005: 363). *Beauveria* – один из самых известных родов энтомопатогенных грибов, и во всем мире для борьбы с насекомыми-вредителями используются многочисленные зарегистрированные составы микоинсектицидов на основе *Beauveria bassiana* и *B. bronghiartii* (Faria, 2007: 237).

Вирулентность является наиболее важным показателем при измерении потенциала грибов против вредителя и является основой для выбора высоковирусных грибов в лабораторных биоанализах (Li, 2014: 32; Jin, 2008: 1008). Энтомопатогенные грибы вызывают инфекцию путем активного проникновения через кутикулу насекомых. Таким образом, энтомопатогенные грибы синтезируют *in vitro* липазы, протеазы и хитиназы – внеклеточные ферменты, гидролизующие основные компоненты кутикулы насекомых. Получены убедительные данные о корреляции активности ферментов и вирулентности (Li, 2014: 32; Schrank, 2010: 1267).

Кроме того, известно, что оптимальные условия окружающей среды для развития грибов различны для разных штаммов. Температура является одним из основных факторов, влияющих на взаимодействие грибов и насекомых, который может определить успех борьбы с вредителями в естественных условиях (Thomas, 1986: 12; Fargues, 2000: 202). Оптимальные температуры для развития большинства энтомопатогенных грибов колеблются в пределах от 20 до 30°C, а температурные границы роста составляют от 5 до 37°C (Fargues, 1992: 557; Ouedraogo, 1997: 37; Wraight, 2007: 223; De Crecy, 2009: 74; Fernandes, 2008: 69). Устойчивость гриба к повышенным температурам в значительной степени определя-

ет его биологическую эффективность. Особенно этот вопрос приобретает актуальность для регионов, характеризующихся жарким и сухим климатом в течение вегетационного сезона. Именно такой гидротермический режим характерен практически для всей территории Казахстана.

Энтомопатогенный гриб *Beauveria bassiana* представляет собой биологический агент, способный заражать широкий спектр насекомых – вредителей (Крюков, 2007: 195). Эффективная защита растений является необходимым условием обеспечения продовольственной и экологической безопасности Республики Казахстан. Особую опасность для сельского и лесного хозяйства представляют колорадский жук, короед Гаузера и стадные виды саранчи. Картофельный колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say. широко распространен на территории Казахстана и является основным вредителем картофеля. Повреждения картофельных полей колорадским жуком ведет к снижению урожая на 70-80% и даже 100% (Чекмарев, 2006: 10). Деятельность короеда Гаузера *Ips hauseri* L. вызывает массовое усыхание еловых насаждений. *Beauveria bassiana* естественным природным регулятором численности короеда Гаузера (Казенас, 2016: 26; Леднев, 2016: 93). Климат Казахстана благоприятен для увеличения численности саранчовых. *Locusta migratoria* L. является одним из наиболее опасных видов представителей данного вредителя (Лачининский, 2002: 387). В связи с изложенным выше, основная цель работы – оценка биологической активности изучаемых штаммов на насекомых из разных систематических групп, а также оценка мицелиального роста в температурном диапазоне 15-30°C у изолятов энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*.

Материалы и методы исследования

В работе использовались 9 штаммов гриба *Beauveria bassiana*, из коллекции энтомопатогенных организмов лаборатории биотехнологии Казахского научно-исследовательского института защиты и карантина растений им. Ж. Жиембаева: VPit₁₂-16, VOr₂-16, BPit₁₅-16, BPit₁₇-16, BPit₁₈-16, BPit₁₉-16, BPit₂₀-16, BSc₇-16, BSc₈-16.

Вирулентность энтомопатогенных гифомицетов оценивали на личинках 2-го и 3-го возрастов местной популяции колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say.) и азиатской саранчи (*Locusta migratoria* L.), а также на имаго короеда Гаузера (*Ips hauseri* L.).

Культивирование грибов для массового получения конидий грибов производилось в чашках Петри в поверхностной культуре на модифицированной среде Сабуро (Леднев, 2003: 79). Для подавления роста бактерий и грибов порядка *Mucorales* в среду добавляли стрептомицин.

Через 7-14 дней при наличии массового конидиального спороношения конидии аккуратно соскребались стерильным шпателем со среды. В дальнейшем споры гриба подсушивались в термостате при 25-30°C. После подсушивания конидиальной массы проводился подсчет титра спор патогена в камере Горяева по стандартной методике (Хабибуллина, 2007:23). Хранение полученного биоматериала проводилось в холодильной камере при температуре +3-5°C.

Лабораторная оценка биологической активности грибов проводилась по стандартным методикам (Леднев, 2003: 79). Заражение насекомых энтомопатогенными грибами проводилось обмакиванием последних на три секунды в суспензию конидий патогена с титром $1 \cdot 10^7$ спор/мл из расчета 1 мл суспензии на 10 особей. Повторность каждого варианта эксперимента четырехкратная. Контрольные насекомые обрабатывали дистиллированной водой. В опытах с имаго короедов обработанные особи помещали в чашки Петри 60 мм с увлажненными дисками из фильтровальной бумаги (10 особей на чашку). В качестве корма использовали кору, взятую с заселенных короедами елей. Чашки Петри с насекомыми инкубировали в темноте при постоянной температуре 20°C. Для других видов тест-насекомых применяли следующую методику: инокулированные особи помещали в пластиковые стаканы объемом 1000 мл, закрытые тканью с мелкими отверстиями (10 особей на повторность) и инкубировали при температуре 25–30°C и естественном освещении. Учёт смертности проводился ежедневно в течение 15 суток. Всех погибших особей отбирали и помещали во влажную камеру (чашка Петри со смоченным водой фильтром) с целью установления причины смерти и уровня обрастания погибших особей.

Определение влияния температуры на интенсивность радиального роста грибов в поверхностной культуре проводилось путем укола микробиологической петлей в центр чашки Петри с питательной средой Сабуро, которые затем помещались в термостаты (IPP 300, Memmert, Германия) с фиксированной темпе-

ратурой (15, 20, 25 и 30°C). Расчет прироста производился в течение 29 суток с интервалом в 2-е суток, для этого измеряли диаметр колонии в двух направлениях. Для каждого штамма использовалась 4-х кратная повторность эксперимента (Леднев, 2003: 79). Изучение микроморфологии грибных культур проводили на микроскопе **Axiostar plus (Zeiss, Германия)** при увеличении 40×90.

Статистическая обработка данных проводилась методом однофакторного дисперсионного анализа с использованием пакета прикладных программ «**Sigma Plot 9.01**». В таблицах представлены средние значения из всех опытов с их стандартными ошибками. Для оценки достоверности отличий использовали критерий Фишера.

Результаты исследования и их обсуждение

Для изучения биологической активности были отобраны 9 наиболее эффективных по предварительным экспериментам штаммов гриба рода *Beauveria bassiana*: BPit₁₂-16, BOr₂-16, BPit₁₅-16, BPit₁₇-16, BPit₁₈-16, BPit₁₉-16, BPit₂₀-16, BSc₇-16, BSc₈-16. Культуры грибов были изолированы с жуков-короедов, собранных с признаками микоза на севере Киргизии (Бишкек, Ботанический сад (2016 г.)). Титр рабочей суспензии $1 \cdot 10^7$ спор/мл.

В результате лабораторного эксперимента по оценке вирулентности на личинках 1-го поколения колорадского жука установлено, что наиболее эффективными в выборке являлись штаммы: BPit₁₂-16 и BPit₁₇-16, где на 7-е сутки после заражения динамика смертности составила 90,0±5,8 % и 90,0±10,0 % (таблица 1). Для штамма BSc₈-16 высокий уровень смертности наблюдался на 9-е сутки (85,0±9,6 %).

По данным опыта по оценке биологической активности на личинках азиатской саранчи на 7-е сутки после заражения значения колебались от 85,0±5,0 % до 100 % для штаммов: BOr₂-16, BPit₁₂-16, BPit₁₇-16 и BPit₂₀-16 (таблица 2).

Важнейшим элементом при разработке микроинсектицидов является определение оптимальных доз патогена. В этой связи были проведены опыты по определению зависимостей доза – смертность для некоторых отобранных штаммов гриба *B. bassiana*. Использовались суспензии патогена с тремя различными вариантами концентрации ($1 \cdot 10^6$, $5 \cdot 10^6$, $1 \cdot 10^7$ спор/мл) (Успанов, 2013: 123).

Таблица 1 – Динамика биологической активности штаммов вида *B. bassiana* на личинках 1-го поколения 2-3-го возрастов колорадского жука, титр $1 \cdot 10^7$ спор/мл

Изолят	Смертность, %, сут.				
	3	5	7	9	11
Контроль	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
VPit ₁₂ -16	10,0±10,0	50,0±19,1	90,0±10,0	100	100
VO _{r2} -16	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	15,0±9,6	25,0±12,6
VPit ₁₅ -16	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	5,0±5,0
VPit ₁₇ -16	30,0±5,8	75,0±9,6	90,0±5,8	90,0±5,8	90,0±5,8
VPit ₁₈ -16	0,0±0,0	5,0±5,0	5,0±5,0	25,0±12,6	30,0±10,0
VPit ₁₉ -16	0,0±0,0	10,0±5,8	10,0±5,8	15,0±9,6	30,0±12,9
VPit ₂₀ -16	0,0±0,0	5,0±5,0	10,0±5,8	10,0±5,8	20,0±8,2
BSc ₇ -16	0,0±0,0	5,0±5,0	5,0±5,0	5,0±5,0	15,0±5,0
BSc ₈ -16	0,0±0,0	35,0±12,6	35,0±12,6	85,0±9,6	100
НСП ₀₅	10,55	24,59	18,46	20,93	21,90

Таблица 2 – Динамика биологической активности штаммов вида *B. bassiana* на личинках 2-3-го возрастов азиатской саранчи, титр $1 \cdot 10^7$ спор/мл

Изолят	Смертность, %, сут.				
	3	5	7	9	11
Контроль	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
VPit ₁₂ -16	0,0±0,0	0,0±0,0	85,0±9,6	95,0±5,0	95,0±5,0
VO _{r2} -16	0,0±0,0	5,0±5,0	85,0±5,0	100	100
VPit ₁₅ -16	35,0±23,6	70,0±19,1	75,0±18,9	80,0±14,1	85,0±15,0
VPit ₁₇ -16	0,0±0,0	5,0±5,0	85,0±9,6	100	100
VPit ₁₈ -16	0,0±0,0	5,0±5,0	65,0±12,6	95,0±5,0	95,0±5,0
VPit ₁₉ -16	0,0±0,0	5,0±5,0	30,0±10,0	65,0±17,1	80,0±8,2
VPit ₂₀ -16	0,0±0,0	60,0±24,5	100	100	100
BSc ₇ -16	0,0±0,0	15,0±9,6	50,0±12,9	80,0±8,2	90,0±10,0
BSc ₈ -16	0,0±0,0	0,0±0,0	40,0±11,5	85,0±5,0	90,0±5,8
НСП ₀₅	-	31,09	30,63	22,99	19,38

Для личинок 2-го поколения колорадского жука выявлены различия по скорости гибели вредителя в зависимости от концентрации инокулюма. Было отобрано два штамма VPit₁₂-16 и VPit₂₀-16, по причине того, что при ранних исследованиях результаты опытов по данным штаммам были неоднозначны. Так для обоих культур уже на 5 сутки после заражения при минимальном титре $1 \cdot 10^6$ спор/мл уровень смертности составил до 80 %, тогда как при концентрациях $5 \cdot 10^6$ и $1 \cdot 10^7$ спор/мл значения колебались от 95 % до 100 % (таблица 3).

Следует отметить, что при всех вариантах концентрации итоговый уровень смертности личинок на 7-9 сутки после заражения был существенно высок и составил от 95,0±5,0 % до 100 %. Из опыта следует, что наиболее эффективным оказался штамм VPit₂₀-16, так как показал высокий уровень смертности при минимальном титре рабочей суспензии $1 \cdot 10^6$ спор/мл на 5 сутки после инфицирования.

Итоговый уровень смертности имаго коро-еда Гаузера на 11-е сутки после заражения варьировал от 85 % до 100 %. Установлено что,

наиболее высокий уровень смертности показали штаммы: BPit₁₂-16, BPit₁₇-16, BPit₁₉-16, BSc₇-16 и BSc₈-16, где уже на 7-е сутки значения составили от 85,0±9,6 % до 95,0±5,0 % (таблица 4).

На следующем этапе исследований были проведены опыты, направленные на опреде-

ление динамики радиального роста колоний отобранных штаммов гриба рода *Beauveria* в поверхностной культуре на среде Сабуро при разной температуре воздуха (15, 20, 25 и 30°С). Прирост колоний учитывали в течение 29 суток с интервалом в 2-е суток.

Таблица 3 – Динамика биологической активности штаммов вида *B. bassiana* на личинках 2-го поколения 2-3-го возрастов колорадского жука

Изолят	Смертность, %, сут. титр 1*10 ⁶ спор/мл			
	3	5	7	9
Контроль	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
BPit ₁₂ -16	30,0±12,9	70,0±17,3	95,0±5,0	100
BPit ₂₀ -16	5,0±5,0	80,0±14,1	100	100
НСП ₀₅	-	41,30	9,24	0,0
	Смертность, %, сут. Титр 5*10 ⁶ спор/мл			
BPit ₁₂ -16	55,0±17,1	95,0±5,0	100	100
BPit ₂₀ -16	20,0±0,0	100	100	100
НСП ₀₅	31,54	9,24	0,0	0,0
	Смертность, %, сут. Титр 1*10 ⁷ спор/мл			
BPit ₁₂ -16	65,0±12,6	100	100	100
BPit ₂₀ -16	45,0±9,6	100	100	100
НСП ₀₅	29,20	0,0	0,0	0,0

Таблица 4 – Динамика биологической активности штаммов вида *B. bassiana* на имаго короледа Гаузера, титр 1*10⁷ спор/мл

Изолят	Смертность, %, сут.				
	3	5	7	9	11
Контроль	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
BPit ₁₂ -16	30,0±19,1	55,0±17,1	85,0±9,6	95,0±5,0	100
BO _{r2} -16	35,0±5,0	50,0±17,3	75,0±9,6	95,0±5,0	100
BPit ₁₅ -16	15,0±9,6	45,0±5,0	80,0±11,5	90,0±10,0	90,0±10,0
BPit ₁₇ -16	45,0±15,0	60,0±16,3	90,0±10,0	100	100
BPit ₁₈ -16	30,0±10,0	50,0±10,0	55,0±9,6	70,0±5,8	95,0±5,0
BPit ₁₉ -16	45,0±9,6	75,0±9,6	85,0±9,6	90,0±10,0	90,0±10,0
BPit ₂₀ -16	40,0±18,3	50,0±17,3	60,0±8,2	75,0±9,6	85,0±9,6
BSc ₇ -16	25,0±15,0	55,0±12,6	85,0±9,6	100	100
BSc ₈ -16	30,0±12,9	65,0±9,6	95,0±5,0	100	100
НСП ₀₅	-	36,82	25,6	17,69	16,25

Установлено, что при 15°С наиболее активная динамика роста отмечена для штаммов BPit₁₅-16 (74,5±3,3мм/сут) и BPit₁₈-16 (60,0±2,1мм/сут), при 20°С для штаммов BO_{r2}-16 (79,8±2,3 мм/

сут) и BPit₁₅-16 (85,0±1,9 мм/сут), при 25°С для штаммов BO_{r2}-16 (84,5±1,0 мм/сут) и BPit₁₉-16 (83,2±1,2 мм/сут) при 30°С для штамма BSc₈-16 (50,3±1,6 мм/сут) (таблица 5).

Анализ проведенных исследований показал, что для данной выборки штаммов вида *B. bassiana* максимальный рост колоний наблюдался при температурах 20 и 25°C. При понижении температуры (15°C) и при повышении тем-

пературы (30°C) прирост колоний существенно снижался.

При этом наиболее устойчивыми к диапазону температур от 15 до 30°C оказались штаммы BSc₈-16 и BPit₂₀-16.

Таблица 5 – Влияние температуры воздуха на прирост колоний природных штаммов грибов вида *B. bassiana* на агаризованной среде Сабура на 29-е сутки после посева

Штамм	Диаметр колоний, мм			
	+15°C	+20°C	+25°C	+30°C
BPit ₁₂ -16	46,5±3,1	64,3±0,2	80,3±0,4	33,5±2,4
BO _{r2} -16	54,3±0,6	79,8±2,3	84,5±1,0	43,3±0,4
BPit ₁₅ -16	74,5±3,3	85,0±1,9	82,2±2,6	33,2±2,7
BPit ₁₇ -16	51,5±0,9	67,3±0,9	73,5±3,6	42,3±2,3
BPit ₁₈ -16	60,0±2,1	75,3±2,3	80,5±0,3	38,0±1,9
BPit ₁₉ -16	52,8±0,2	69,5±1,2	83,2±1,2	38,5±2,6
BPit ₂₀ -16	55,0±2,4	66,5±2,3	73,3±2,1	45,8±1,5
BSc ₇ -16	47,5±1,8	61,0±5,8	75,2±1,7	42,5±1,0
BSc ₈ -16	51,8±1,9	60,3±0,6	81,8±1,9	50,3±1,6
HCP ₀₅	6,14	7,36	5,71	5,84

В результате проведенных исследований было выявлено, что значительная доля культур, выделенных с жуков-короедов, обладает высокой вирулентностью и в отношении представителей из других систематических групп. Это говорит о схожей восприимчивости данных насекомых-вредителей к энтомопатогенному грибу *Beauveria bassiana*. **В качестве перспективных штаммов-продуцентов для производ-**

ства микоинсектицида можно рекомендовать BPit₂₀-16 и BSc₈-16, так как изоляты показали высокий уровень биологической активности в отношении всех тест-насекомых. Кроме того рекомендуемые штаммы оказались наиболее устойчивыми к повышенным температурам, что характерно для климата Казахстана. Рекомендуемая концентрация суспензии патогена $1 \cdot 10^7$ спор/мл.

Литература

- Xiao G., Ying S., Zheng P., Wang Z., Zhang S., Xie X., Shang Y., et al. Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana* // Scientific reports. – 2012. – Vol. 2 – P. 483.
- Tarocco F, Lecuona RE, Couto AS, Arcas JA. Optimization of erythritol and glycerol accumulation in conidia of *Beauveria bassiana* by solid-state fermentation, using response surface methodology // Appl Microbiol Biotechnol. – 2005. – Vol. 68 – P. 481–488.
- Taylor B, Edgington S, Luke B, Moore D. Yield and germination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* when grown on different rice preparations // J Stored Prod Res. – 2013. – Vol. 53 – P.23–26.
- Gouli V, Gouli S, Kim JS. Production of *Beauveria bassiana* Air conidia by means of optimization of biphasic system technology // Braz Arch Biol Technol. – 2014. – Vol. 57. – P. 571–577.
- Donadio S., Monciardini P., Alduina R. et al. Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites // Biotechnology. – 2012. – Vol. 99. – P. 187-198.
- Fang WJ, Leng B, Xiao YH, Jin K, Ma JC, Fan YH, et al. Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene Bbchit1 and its application to improve fungal strain virulence // Appl Environ Microbiol. – 2005. – Vol. 71. – P. 363–370.
- Faria M.R., Wraight S.P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types // Biol Control. 2007. – Vol. 43. – P. 237–256.
- Li MY., Li SG., Xu AM., Lin HF., Chen DX., Wang H. Selection of *Beauveria* isolates pathogenic to adults of *Nilaparvata lugens* // Journal of Insect Science. – 2014. – Vol. 14. – P. 32.

- Jin SF, Feng MG, Chen JQ. Selection of global *Metarhizium* isolates for the control of the rice pest *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) // *Pest Manag Sci.* – 2008. – Vol. 64. – P. 1008-1014.
- Schrank A, Vainstein MH. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins // *Toxicon.* – 2010. – Vol. 56. – P. 1267-1274.
- Thomas K.C., Khachatourians G.G., Ingledew W.M. Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture // *Can. Microbiol.* – 1986. – Vol. 33. – P. 12–20.
- Fargues J., Luz C. Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the infection potential of *Beauveria bassiana* for *Rhodnius prolixus* // *Invert Pathol.* – 2000. – Vol. 75. – P. 202–211.
- Fargues J., Maniania N.K., Delmas J.C., Smits N. Influence of temperature on in vitro growth of entomopathogenic hyphomycetes // *Agronomie.* – 1992. – Vol. 12. – P. 557-564.
- Ouedraogo A., Fargues J., Goettel M.S., Lomer C.J. Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride* // *Mycopathologia.* – 1997. – Vol. 137. – P. 37-43.
- Wraight S.P., Inglis G.D., Goettel M.S. Field manual of techniques in invertebrate pathology. Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests // Springer. – Dordrecht, Netherlands, 2007. – P. 223-248.
- De Crecy E., Jaronski S., Lyons B., Lyons T.J., Keyhani N.O. Directed evolution of a filamentous fungus for thermotolerance // *BMC Biotechnology.* – 2009. – Vol. 9. – P. 74.
- Fernandes E.K.K., Rangel D.E.N., Moraes A.M.L., Bittencourt V.R.E.P., Roberts D.W. Cold activity of *Beauveria* and *Metarhizium*, and thermotolerance of *Beauveria* // *J. Invertebr. Pathol.* – 2008. – Vol. 98. – P. 69-78.
- Крюков В.Ю., Леднев Г.Р., Дубовский И.М., Серебров В.В., Левченко М.В., Ходырев В.П., Сагитов А.О., Глухов В.В. Перспективы применения энтомопатогенных гифомицетов (Deuteromycota, Hyphomycetes) для регуляции численности насекомых // *Евразиатский энтомологический журнал.* – 2007. – №2. – С. 195–204.
- Чекмарев П.А. Удобрения, урожай и качество клубней // *Картофель и овощи.* – 2006. – №8. – С. 10.
- Казенас В.Л., Темрешев И.И., Есенбекова П.А. Обзор санитарного состояния хвойных лесов в местах ветровала в Иле-Алатауском Государственном Национальном природном парке (Казахстан) в 2011-2015 гг. // *Nature Conservation Research. Запов. наука.* – 2016. – №1. – С. 23-37.
- Леднев Г.Р., Абдукерим Р., Успанов А.М., Сабитова М.Н., Каменова А.С., Левченко М.В., Дуйсембеков Б.А. Энтомопатогенные грибы в популяциях жуков-короедов в предгорьях Заилийского Алатау // *Вестник защиты растений.* – 2016. – №3. – С. 93-94.
- Лачининский А.В., Сергеев М.Г., Чильдебаев М.К., Черняховский М.Е., Локвуд Дж. А., Камбулин В.Е., Гаппаров Ф.А. Саранчовые Казахстана, Средней Азии и сопредельных территорий. – Ларам: Международная Ассоциация Прикладной Акридологии и Университет Вайоминга. – 2002. – 387 с.
- Хабибуллина Ф.М. Основы микробиологии и биотехнологии: сб. описаний лабораторных работ для подготовки дипломированного специалиста по направлению 656600 «Защита окружающей среды» спец. 280201 «Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов» оч. и оч.-заоч. форм обуч. – Сыктывкар. – 2007. – 36 с.
- Леднев Г. Р., Борисов Б. А., Митина Г. В. Возбудители микозов насекомых: пособие по диагностике. – СПб.: Всерос. НИИ защиты растений. – 2003. – 79 с.
- Успанов А.М. Биологическое обоснование отбора штаммов гриба *Beauveria bassiana* S.L. для снижения численности саранчовых в Казахстане. – Дисс. Успанов А.М. канд.биол.наук. – СПб., 2013. – 123 с.

References

- Chekmarev P.A. (2006) Udobreniya, urozhay i kachestvo klubney [Fertilizers, yield and quality of tubers]. *Kartofel i ovoschi*, vol. 8, pp. 10.
- De Crecy E., Jaronski S., Lyons B., Lyons T.J., Keyhani N.O. (2009) Directed evolution of a filamentous fungus for thermotolerance. *BMC Biotechnology*, vol. 9, pp. 74.
- Donadio S., Monciardini P., Alduina R. et al. (2012) Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. *Biotechnology*, vol. 99, pp. 187-198.
- Fang WJ, Leng B, Xiao YH, Jin K, Ma JC, Fan YH, et al. (2005) Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene *Bbchit1* and its application to improve fungal strain virulence. *Appl Environ Microbiol.*, vol. 71, pp. 363–370.
- Faria M.R., Wraight S.P. (2007) Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol Control.*, vol. 43, pp. 237–256.
- Fargues J., Luz C. (2000) Effects of fluctuating moisture and temperature regimes on the infection potential of *Beauveria bassiana* for *Rhodnius prolixus*. *Invert Pathol.*, vol. 75, pp. 202–211.
- Fargues J., Maniania N.K., Delmas J.C., Smits N. (1992) Influence of temperature on in vitro growth of entomopathogenic hyphomycetes. *Agronomie*, vol. 12, pp. 557-564.
- Fernandes E.K.K., Rangel D.E.N., Moraes A.M.L., Bittencourt V.R.E.P., Roberts D.W. (2008) Cold activity of *Beauveria* and *Metarhizium*, and thermotolerance of *Beauveria*. *J. Invertebr. Pathol.*, vol. 98, pp. 69-78.
- Gouli V, Gouli S, Kim JS. (2014) Production of *Beauveria bassiana* Air conidia by means of optimization of biphasic system technology. *Braz Arch Biol Technol.*, vol. 57, pp. 571–577.
- Habibullina F.M. (2007) Osnovy mikrobiologii i biotekhnologii: sb. opisaniy laboratornykh rabot dlya podgotovki diplomirovannogo spetsialista po napravleniyu 656600 «Zaschita okruzhayushey sredy» spets. 280201 «Ohrana okruzhayushey sredy i rationalnoe ispolzovanie prirodnykh resursov» och. i och.-zaoch. form obuch. [Fundamentals of microbiology and biotechnology: Sat. descriptions of laboratory works for the preparation of a graduate in the direction 656600 "Protection of the environment" special.

280201 "Environmental protection and rational use of natural resources" full-time and part-time forms of training]. Syiktyivkar, pp. 36.

Jin SF, Feng MG, Chen JQ. (2008) Selection of global *Metarhizium* isolates for the control of the rice pest *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Pest Manag Sci.*, vol. 64, pp. 1008-1014.

Kazenas V.L., Temreshev I.I., Esenbekova P.A. (2016) Obzor sanitarnogo sostoyaniya hvoynyh lesov v mestah vetrovala v Ile-Alatauskom Gosudarstvennom Natsionalnom prirodnom parke (Kazahstan) v 2011-2015 gg. [The review of the sanitary condition of coniferous forests in places was winded in the Ile-Alatau State National Natural Park (Kazakhstan) in 2011-2015]. *Nature Conservation Research. Zapov, nauka*, vol. 1, pp. 23-37.

Kryukov V.Yu., Lednev G.R., Dubovskiy I.M., Serebrov V.V., Levchenko M.V., Hodyirev V.P., Sagitov A.O., Glupov V.V. (2007) Perspektivnyi primeneniya entomopatogennykh gifomitsetov (Deuteromycota, Hyphomycetes) dlya regulyatsii chislennosti nasekomykh [Prospects for the use of entomopathogenic hyphomycetes (Deuteromycota, Hyphomycetes) for the regulation of insect numbers]. *Evroaziatskiy entomologicheskiy zhurnal*, vol. 2, pp. 195-204.

Lachininskiy A.V., Sergeev M.G., Childebaev M.K., Chernyahovskiy M.E., Lokvud Dzh. A., Kambulin V.E., Gapparov F.A. (2002) Saranchovyye Kazahstana, Sredney Azii i sopredelnykh territoriy [Locusts of Kazakhstan, Central Asia and adjacent territories]. *Larami: Mezhdunarodnaya Assotsiatsiya Prikladnoy Akridologii i Universitet Vayominga*, pp. 387.

Lednev G. R., Borisov B. A., Mitina G. V. (2003) Vozbuditeli mikofov nasekomykh: posobie po diagnostike [Pathogens of insect mycoses: a diagnostic manual]. SPb.: Vseros. NII zaschityi rasteniy, pp. 79.

Lednev G.R., Abdukerim R., Uspanov A.M., Sabitova M.N., Levchenko M.V., Duysembekov B.A. (2016) Entomopatogennyye griby v populyatsiyah zhukov-koroedov v predgoryah Zailiyskogo Alatau [Entomopathogenic fungi in populations of bark beetles in the foothills of the Zailiyskiy Alatau]. *Vestnik zaschityi rasteniy*, vol. 3, pp. 93-94.

Li MY., Li SG., Xu AM., Lin HF., Chen DX., Wang H. (2014) Selection of *Beauveria* isolates pathogenic to adults of *Nilaparvata lugens*. *Journal of Insect Science*, vol. 14, pp. 32.

Ouedraogo A., Fargues J., Goettel M.S., Lomer C.J. (1997) Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathologia*, vol. 137, pp. 37-43.

Schrank A, Vainstein MH. (2010) *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, vol. 56, pp. 1267-1274.

Tarocco F, Lecuona RE, Couto AS, Arcas JA. (2005) Optimization of erythritol and glycerol accumulation in conidia of *Beauveria bassiana* by solid-state fermentation, using response surface methodology. *Appl Microbiol Biotechnol.*, vol. 68, pp. 481-488.

Taylor B, Edgington S, Luke B, Moore D. (2013) Yield and germination of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* when grown on different rice preparations. *J Stored Prod Res.*, vol. 53, pp. 23-26.

Thomas K.C., Khachatourians G.G., Ingledew W.M. (1986) Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture. *Can. Microbiol.*, vol. 33, pp. 12-20.

Uspanov A.M. (2013) Biologicheskoe obosnovanie otbora shtammov griba *Beauveria bassiana* S.L. dlya snizheniya chislennosti saranchovykh v Kazahstane [Biological substantiation of the selection of strains of the fungus *Beauveria bassiana* S.L. to reduce the number of locusts in Kazakhstan]. Diss. Uspanov A.M. kand.biol.nauk, pp. 123.

Wraight S.P., Inglis G.D., Goettel M.S. (2007) Field manual of techniques in invertebrate pathology. Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests. Springer, pp. 223-248.

Xiao G., Ying S., Zheng P., Wang Z., Zhang S., Xie X., Shang Y., et al. (2012) Genomic perspectives on the evolution of fungal entomopathogenicity in *Beauveria bassiana*. *Scientific reports*, vol. 2, pp. 483.