

**NEWS**

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES**

ISSN 2224-526X

Volume 5, Number 41 (2017), 38 – 43

**R. Zh. Abdukerim<sup>1</sup>, K. N. Tulengutova<sup>1</sup>, A. S. Kamenova<sup>2</sup>,  
B. A. Duisembekov<sup>2</sup>, G. R. Lednev<sup>3</sup>, S. G. Udalov<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Kazakh national agrarian university, Almaty, Kazakhstan,

<sup>2</sup>Kazakh Research Institute of Plant Protection and Quarantine, Almaty, Kazakhstan,

<sup>3</sup>All-Russian Scientific Research Institute for the Protection of Plants (VIZR), St. Petersburg, Russia.

E-mail: rauza91@mail.ru

## **PROSPECTS OF THE USE OF ENTOMOPATHOGENIC ANAMORPHIC ASCOMYCETES AGAINST THE MAINLY XYLOPHAGOUS OF THE SPRUCE**

**Abstract.** In this study, we observed entomopathogenic mycobiota of the bark beetles in the foothill zone of Zailiysky Alatau, and tested efficacy of this isolates against bark beetles *I. hauseri* and *I. typographus*.

**Key words:** entomopathogenic ascomycetes, bark beetle, Beauveria, Isaria.

УДК 595.7:595.768.24:632.937.14:579.64

**Р. Ж. Абдукерим<sup>1</sup>, К. Н. Туленгутова<sup>1</sup>, А. С. Каменова<sup>2</sup>,  
Б. А. Даусембеков<sup>2</sup>, Г. Р. Леднев<sup>3</sup>, С. Г. Удалов<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан,

<sup>2</sup>Казахский научно-исследовательский институт защиты растений и карантина, Алматы, Казахстан,

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР), Санкт-Петербург, Россия

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ АНАМОРФНЫХ АСКОМИЦЕТОВ ПРОТИВ ОСНОВНЫХ КСИЛОФАГОВ ЕЛИ**

**Аннотация.** Исследования, направленные на изучение энтомопатогенной микобиоты жуков-короедов в предгорной зоне Заилийского Алатау, и скрининг выделенных природных изолятов грибов по признаку вирулентности в отношении короеда Гаузера и короеда типографа.

**Ключевые слова:** энтомопатогенные аскомицеты, короед, *Beauveria*, *Isaria*.

**Введение.** По данным всемирной организации ФАО последнее время во всем мире наблюдается уменьшения площади лесов, что в свою очередь приведет к изменению экологического баланса. В Казахстане лесов мало, занимают они всего более 3 процентов территории. В основном они сосредоточены в горных районах Алтая, Джунгарского Алатау и в восточных отрогах Тянь-Шаня [1].

Юго-восточном Казахстане леса играют важнейшие защитные функции, такие как снегозадержание, удерживание влаги в почве, предотвращения оползней, селей и снежных лавин. Но, после сильнейших ураганов в мае 2011 г. в государственном природном парке «Медео» и Иле-Алатауском государственном национальном природном парке в ущелье Медео лесные насаждения были уничтожены на общей площади 480 га [2, 3]. Известно, что наличие ветровала создает благоприятные условия для массового размножения жуков-короедов и, соответственно, является

предпосылкой для их активной миграции на живые деревья окружающих территорий обширных лесных массивов. Основными стволовыми вредителями хвойных лесов Казахстана является: короед Гаузера (*Ipsshauseri Reitt.*), шестизубый короед (*Ipssexdentatus Boern.*), азиатский гравер (*Pityoge-nesperfossus Bees.*).

Все это вызывает острую необходимость поиска экологически безопасных методов контроля численности вредителей данной группы. В настоящее время комплекс защитных мероприятий против короедов включает в себя, прежде всего, лесохозяйственные мероприятия (санитарные вырубки, использование ловчих деревьев и др.). Химический метод снижения численности короедов имеет достаточно ограниченное применение, что обусловлено в первую очередь скрытым образом жизни вредителей данной группы. Учитывая статус Иле-Алатауского ГНПП, значительные перспективы для контроля численности короедов может иметь использование биологических препаратов на основе энтомопатогенных аскомицетов из анаморфных родов (*Ascomycota:Hypocreales*).

Представители данной группы микромицетов достаточно часто встречаются в популяциях различных видов жуков-короедов [8, 10], а исследования, направленные на разработку микроинсектицидов для контроля численности данной группы вредителей проводятся во многих странах мира – Белоруссии, Германии, Словакии и др. [4-7, 9, 10]. В Казахстане работ в этом направлении до недавнего времени практически не было [3].

В связи с этим нами были проведены исследования, направленные на изучение энтомопатогенной микробиоты жуков-короедов в предгорной зоне Заилийского Алатау, и скрининг выделенных природных изолятов-грибов по признаку вирулентности в отношении наиболее массового из этой группы вредителей вида *I.hauseri*. Считая, что дальнейшее проникновение с привозной древесиной вредителей и их акклиматизация в еловых лесах вполне вероятна, нами также проведены исследования по признаку вирулентности в отношении короеда типографа, который в данный момент еще не встречается на территории Казахстана. Но этот вредитель широко распространен на территории еловых лесов Евразии.

**Материалы и методы.** Маршрутные обследования для выделения новых изолятов проводились в мае-августе 2015 года в нескольких точках урочища Медеу (государственном природном парке «Медеу») на высоте 1300-2000 м (43,1° с.ш., 76,6° в.д.). В результате, практически на всех проанализированных стволах под корой встречались имаго вредителей с явными признаками микоза.

Изоляцию грибов в чистую культуру проводили по стандартной методике. Небольшой кусок мицелиально-спорового налета с трупа насекомого препараторской иглой помещали в чашку Петри на модифицированную среду Сабуро следующего состава: пептон (10 г), глюкоза (10 г), мальтоза (10 г), дрожжевой экстракт (5 г), агар-агар (16-18 г), вода – 1 л (режим автоклавирования 0,8 атм. 30 мин). Для подавления роста бактерий и грибов порядка Mucorales в среду добавляли 0,04% молочной кислоты.

В ходе многократных пересевов (до 10 пассирований) получали чистые культуры энтомопатогенных грибов. Моноспоровые изоляты получали по общепринятой методике.

Культивирование грибов для массового получения конидий грибов и определения морфологии колоний проводили также на модифицированной среде Сабуро.

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.

Хранение полученного биоматериала проводилось в холодильной камере при температуре +3 - +5°C.

**Результаты и обсуждения.** Маршрутные обследования проводились в мае-августе 2015 года в нескольких точках урочища Медеу (государственном природном парке «Медеу») на высоте 1300-2000 м (43,1° с.ш., 76,6° в.д.). В результате, практически на всех проанализированных стволах под корой встречались имаго вредителей с явными признаками микоза. В итоге было собрано более тридцати подобных особей, из которых выделено двадцать восемь культур анаморфных

аскомицетов. Анализ таксономического состава изолированных культур показал, что, по крайней мере, двадцать из них относятся к энтомопатогенным видам. При этом, половина из этих природных изолятов по морфологическим признакам принадлежит к *Beauveriabassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.sensolato. Другие культуры были отнесены к роду *Isaria* (=*Paecilomyces*). Аналогичный групповой состав энтомопатогенных анаморфных аскомицетов на жуках-короедах был обнаружен и в некоторых странах Европы [8-10]. Таким образом, можно говорить о достаточно широкой встречаемости в урочище Медео возбудителей микозов в популяциях жуков-коедов (рисунок 1). Поэтому, скрининг выделенных природных изолятов грибов по признаку вирулентности проводилось в отношении короеда Гаузера и короеда типографа. Исходя из этого, в 2015 году в лабораторные исследования проводились на короеде Гаузере собранных из природных мест обитания в урочище Медеу.

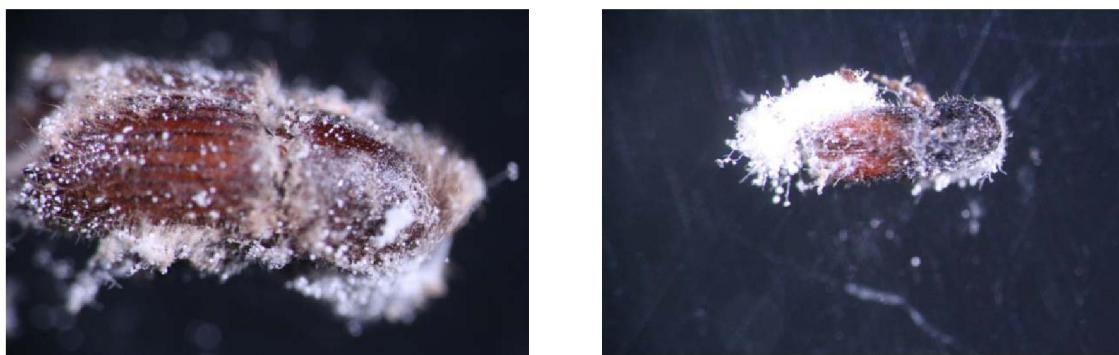


Рисунок 1 – Имаго короеда с признаками микоза

На следующем этапе исследований в лабораторных условиях на имаго короеда Гаузера была оценена биологическая активность 28 изолятов гриба *B. bassiana* l. и – 3 *Isariafarinosa*, изолированных из имаго короедов в 2015 году. Титр водной суспензии конидий  $1 \times 10^7$ .

Проведенные наблюдения показали значительную вариабельность изучаемых культур грибов по признаку вирулентности. К одиннадцатым суткам после заражения уровень биологической эффективности с поправкой на контроль (по формуле Эбботта) варьировал в пределах от 43 до 100% (таблица). При этом доля высоковирулентных форм была существенно выше в сравнении с другими и составила больше 70% (рисунок 2). В динамике гетерогенность по указанному показателю была более значительной. Так через неделю после инокуляции изоляты BbSc2, BbSc3, BpSc6, BpSc6-15, BpSc7-15, BpSc8-15, BpSc9-15, BpSc12-15, BpSc13-15, BpSc14-15, BpSc15-15, BpSc16-15, BpSc17-15, BpSc20-15, BpSc23-15, ISc1-15, ISc2-15 имели высокую эффективность (90-100%).

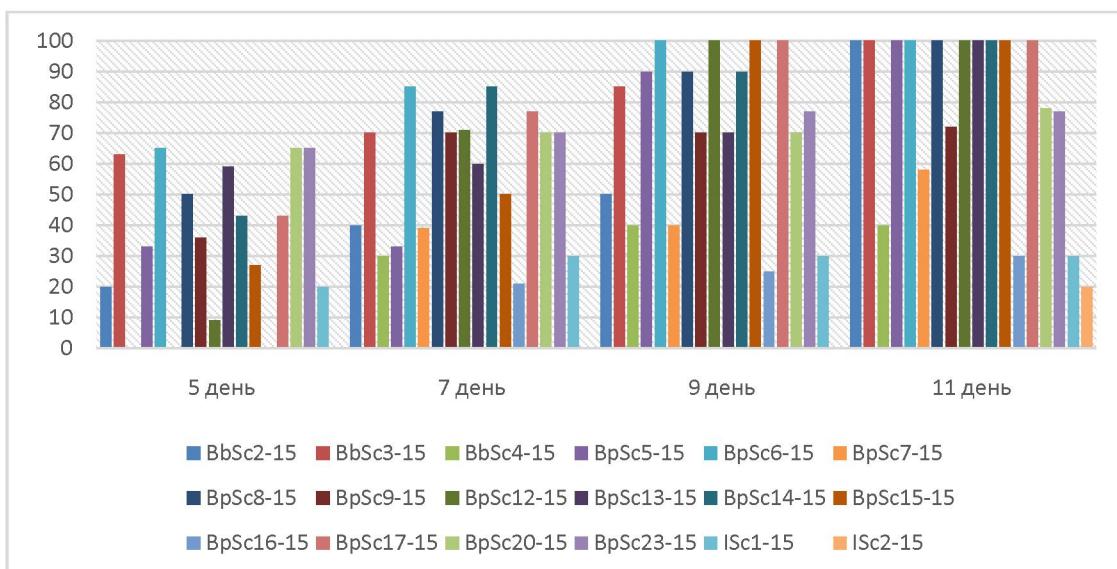


Рисунок 2 – Биологическая эффективность энтомопатогенных изолятов в отношении имаго короеда Гаузера

## Биологическая эффективность энтомопатогенных изолятов в отношении имаго короеда типографа

Изоляты	% смертность				%, уровень микоза
	5	7	9	11	
BbSc <sub>1</sub> -15	40±8.1	67.5±13.7	75±15	85±15.0	50
BbSc <sub>2</sub> -15	42±19.3	90±10.0	100	100	90
BbSc <sub>3</sub> -15	25±9.5	62.5±10.3	100	100	82
BbSc <sub>4</sub> -15	40±9.1	67.5±13.7	87.5±7.5	97.5±2.5	77
BbSc <sub>5</sub> -15	22.5±6.2	32.5±4.7	45±2.8	92.5±7.5	80
BpSc <sub>1</sub> -15	32.5±9.4	45±12.5	65±12.5	70±12.9	40
BpSc <sub>2</sub> -15	25±9.5	35±12.5	50±12.9	75±5.0	68
BpSc <sub>3</sub> -15	35±9.5	50±12.9	65±12.5	65±17.0	60
BpSc <sub>4</sub> -15	35±5.0	65±17.0	70±17.3	75±18.9	56
BpSc <sub>5</sub> -15	35±5.0	50±5.7	65±12.5	70±12.9	74
BpSc <sub>6</sub> -15	70±12.9	85±5.0	100	100	85
BpSc <sub>7</sub> -15	27.5±7.5	45±12.5	57.5±14.3	57±14.3	58
BpSc <sub>8</sub> -15	22.5±8.5	30±12.9	62±8.5	75±15.0	28
BpSc <sub>9</sub> -15	30±17.3	45±15.0	55±17.0	60±18.2	84
BpSc <sub>10</sub> -15	35±9.5	50±5.7	70±12.9	80±11.5	42
BpSc <sub>11</sub> -15	30±5.7	45±15.0	55±15.0	55±15.0	50
BpSc <sub>12</sub> -15	45±12.5	65±9.5	100	100	69
BpSc <sub>13</sub> -15	30±10.0	30±10.0	45±17.0	50±20.8	72
BpSc <sub>14</sub> -15	30±12.9	35±12.5	55±15.0	60±14.1	32
BpSc <sub>15</sub> -15	45±9.5	70±10.0	100	100	79
BpSc <sub>16</sub> -15	35±9.5	40±8.1	60±14.1	75±9.5	49
BpSc <sub>17</sub> -15	15±9.5	25±9.5	60±8.1	70±12.9	67
BpSc <sub>18</sub> -15	35±12.5	40±14.1	50±10.0	65±15.0	51
BpSc <sub>19</sub> -15	40±8.1	65±9.5	90±5.7	95±5.0	75
BpSc <sub>20</sub> -15	35±5.0	40±8.1	55±15.0	65±15.0	36
BpSc <sub>21</sub> -15	45±12.5	60±11.5	90±10.0	95±5.0	80
BpSc <sub>22</sub> -15	65±5.0	75±5.0	90±5.7	95±5.0	77
BpSc <sub>23</sub> -15	25±5.0	30±10.0	60±8.1	70±5.7	64
ISc <sub>1</sub> -15	25±12.6	30±12.9	75±12.5	80±14.1	29
ISc <sub>2</sub> -15	45±5.0	65±5.0	85±9.5	95±5.0	33
ISc <sub>3</sub> -15	35±15.0	50±20.0	50±20.8	50±20.8	45
Inc <sub>1</sub> -15	15±5.0	15±5.0	30±5.7	30±5.7	10
Inc <sub>2</sub> -15	27±11.0	27.5±11.0	27.5±11.0	37.5±20.9	34
Control	0.00	0.00	0.00	15±8.6	
LSD <sub>.05</sub>	14.1	16.7	17.6	17.8	

BpSc<sub>12</sub>, BpSc<sub>15</sub> показали 100%-ю эффективность (15% от общего числа культур). Для подавляющего большинства культур к этому сроку уровень биологической эффективности варьировал в пределах от 20 до 70%.

После этого для определения эффективности против короеда типографа лабораторные испытания проводились 2016 году в Чешском Университете Естественных Наук. Для проведения лабораторных испытаний живые короеды типографы были собраны из природных мест обитания из Национального парка Чешская Швейцария. В результате проведенных испытаний можно

сказать, что короед Гаузера более восприимчив к болезням по сравнению с короедом-типографом. Изоляты BbSc2, BbSc3, BpSc6, BpSc12 и BpSc15 показали высокую эффективность по сравнению с другими изолятами (таблица). Смертность после инокуляции на девятый день почти 100%. Менее эффективными оказались изоляты рода *Isariafarinosa* смертность после 11 суток составило всего лишь в среднем 80 %.

**Выводы.** Таким образом, представленные данные убедительно свидетельствуют о том, что местные казахстанские изоляты энтомопатогенных грибов могут быть вполне перспективны для разработки на их основе микоинсектицидов, эффективных для снижения численности жуков-коедов. И, следовательно, исследования в этом направлении нужно активизировать.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] ФАО. 2016. Состояние лесов мира 2016. Леса и сельское хозяйство: проблемы и возможности землепользования. Рим. / ISBN 978-92-5-409208-5. [2] Исмухамбетов Ж.Д., Мухамадиев Н.С., Дүйсембеков Б.А. Карантинные вредители в еловых лесах Тянь-Шаня / Защита леса – инновации во имя развития: Бюллетень Пост. Комиссии ВПРС МОББ по биологической защите леса. – Вып. 9. – Пушкино: ВНИИЛМ, 2013. – С. 49-53.
- [3] Мухамадиев Н.С., Ашикбаев Н.Ж., Дүйсембеков Б.А., Успанов А.О., Лукина А., Кусханов Б.А. Насекомые-ксилофаги – основные объекты для изучения биоразнообразия и распространения патогенов в урочище Медеу // Материалы международной молодежной конференции "Инфекционная патология членистоногих", 26-29 марта 2012 г., С.-Петербург, Пушкин. - СПб.; Пушкин, 2012. - С. 46-47.
- [4] Wegensteiner R., Weiser J., Führer E. Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *IpstypographusL.* (Coleoptera, Scolytidae). //Journal of Applied Entomology, 1996.120, p. 199-204.
- [5] Wegensteiner R. Laboratory evaluation of *Beauveriabassiana* (Bals.) Vuill.and*Beauveriabrongniartii* (Sacc.) Petch against the four eyed spruce bark beetle, *Polygraphuspoligraphus*(L.) (Coleoptera, Scolytidae). 2000. IOBC/WPRS B. 23, p. 161-166.
- [6] Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann G. Efficacy of *Beauveriabassiana* (Bals.) Vuill.against the spruce bark beetle, *Ipstypographus L.*, in the laboratory under various conditions // Journal of Applied Entomology. 2004. – Vol. 128, № 6. – P. 384-389.
- [7] Battay A. Biocontrol of almond bark beetle (ScolytusamygduleiGeurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveriabassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Applied Microbiology, 2007.103 (5), p 140-141.
- [8] Jankevica, L.: Ecological associations between entomopathogenic fungi and pest insects recorded in Latvia. Latvijas Entomologs, 2004. 41: 60-65.
- [9] Sosnowska, D., Balazy, S. Prishchepa, L. and Mikulskaya N.: Biodiversity of arthropod pathogens in the Białowieża forest. Journal of Plant Protection Research, 2004. 44(4): 313-321,
- [10] Takov D., Doychev D., Wegensteiner R., Pilarska D. Study of Bark Beetle (Coleoptera, Scolytidae) Pathogens from Coniferous stands in Bulgaria // Acta zoologica bulgarica. – 2007. – 59 (1). – P. 87-96.

#### REFERENCES

- [1] FAO. 2016. *State of the World's Forests 2016.Forests and agriculture: problems and opportunities for land use. Rome.* / ISBN 978-92-5-409208-5
- [2] IsmuhambetovZh.D., Muhamediev N.S., Duisembekov B.A./ Quarantine pests in the spruce forests of the Tien Shan / Forest protection - innovation for development: November 28-30 2012 VNIIILM hold «Forest protection – innovations for development» international research conference. Bulletin Post.The Commission for Biological Forest Protection of the IOMB. - 9. - Pushkino: VNIIILM, 2013. - P. 49-53.
- [3] Muhamediev N.S., AshykbaevN.Zh., Duisembekov B.A., Uspanov A.O., Lukina A., Kushtanov B.A., / Xylophagous insects - the main objects for studying biodiversity and the spread of pathogens in the foothills Medeu // Materials of the International Conference "Infectious pathology of arthropods", March 26-29, 2012, St. Petersburg, Pushkin. - St. Petersburg. ; Pushkin, 2012. - P. 46-47.
- [4]Wegensteiner R., Weiser J., Führer E. Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *IpstypographusL.* (Coleoptera, Scolytidae). //Journal of Applied Entomology, 1996.120, p. 199-204.
- [5]Wegensteiner R. Laboratory evaluation of *Beauveriabassiana* (Bals.) Vuill.and*Beauveriabrongniartii* (Sacc.) Petch against the four eyed spruce bark beetle, *Polygraphuspoligraphus*(L.) (Coleoptera, Scolytidae). 2000. IOBC/WPRS B. 23, p. 161-166.
- [6]Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann G. Efficacy of *Beauveriabassiana* (Bals.) Vuill.against the spruce bark beetle, *Ipstypographus L.*, in the laboratory under various conditions // Journal of Applied Entomology. 2004. – Vol. 128, № 6. – P. 384-389.
- [7]Battay A. Biocontrol of almond bark beetle (ScolytusamygduleiGeurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveriabassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Journal of Applied Microbiology, 2007.103 (5), p 140-141.
- [8]Jankevica, L.: Ecological associations between entomopathogenic fungi and pest insects recorded in Latvia. LatvijasEntomologs, 2004. 41: 60-65.
- [9] Sosnowska, D., Balazy, S. Prishchepa, L. and Mikulskaya N.: Biodiversity of arthropod pathogens in the Białowieża forest. Journal of Plant Protection Research, 2004. 44(4): 313-321,
- [10] Takov D., Doychev D., Wegensteiner R., Pilarska D. Study of Bark Beetle (Coleoptera, Scolytidae) Pathogens from Coniferous stands in Bulgaria // Acta zoologica bulgarica. – 2007. – 59 (1). – P. 87-96.

Р. Ж. Әбдукерим<sup>1</sup>, К. Н. Туленгутова<sup>1</sup>, А. С. Каменова<sup>2</sup>,  
Б. А. Дүйсембеков<sup>2</sup>, Г. Р. Леднев<sup>3</sup>, С. Г. Удалов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан,

<sup>2</sup>Қазақ өсімдік қорғау және карантин ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан,

<sup>3</sup>Жалпыресей өсімдіккорғау ғылыми-зерттеу институты, Санкт-Петербург, Ресей

**ШЫРШАНЫН НЕГІЗГІ ҚАБЫҚ ЖЕГІШЗИЯНКЕСТЕРИНЕ ҚАРСЫ  
ЭНТОМОПАТОГЕН АНАМОРФ АСКОМИЦЕТТЕРДІ ҚОЛДАНУ МУМКИНДІГІ**

**Аннотация.** Зерттеу жұмыстары Іле Алатау аймагында таралған энтомопатоген саңырау құлақтарының түрлік құрамын анықтағ, олардың Гаузер ағаш қабығын жеуші (*Ips hauseri*) қоңызына және типограф ағаш қабығын жеуші қоңызына қарсы тиімділігін анықтауға бағытталған.

**Түйін сөздер:** энтомопатоген аскомицеттер, қабық жегіш қоңыз, *Beauveria*, *Isaria*.