

УДК 632.937.12

СИНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГИФОМИЦЕТОВ И БАКТЕРИЙ *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА *Leptinotarsa decemlineata*

© 2009 г. В. Ю. Крюков*, В. П. Ходырев*, О. Н. Ярославцева*, А. С. Каменова**, Б. А. Дуйсембеков**, В. В. Глухов*

*Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, 630091
e-mail: krukoff@mail.ru

**Научно-исследовательский институт защиты и карантина растений, Алматинская обл. 040924, Казахстан
Поступила в редакцию 31.01.2008 г.

Совместное синхронное инфицирование колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* (Say) энтомопатогенными бактериями *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* Bonnifoi & de Barjak var. "tenebrionis" Krieg et al. и гифомицетами *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin или *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill приводит к быстрой (95–100%) гибели личинок. Бактерии вызывают у насекомых прекращение питания и остановку роста, а споры грибов – гибель ослабленных личинок. Синергетический эффект при сочетании двух патогенов регистрируется при относительно невысоком титре гифомицетов ($1-5 \times 10^6$ конидий/мл) и прослеживается в динамике смертности личинок всех возрастов. Бактериальные и грибные патогены не проявляют антагонизма друг к другу на искусственных питательных средах. Данный комплекс микроорганизмов показывает высокую эффективность в естественных условиях (80–90% гибель личинок, отсутствие дефолиации растений).

Одними из наиболее перспективных групп микроорганизмов для управления численностью популяций насекомых являются энтомопатогенные грибы и бактерии. Обладая определенной специфичностью по отношению к хозяевам, они оказывают значительно меньшее, по сравнению с химическими инсектицидами, воздействие на нецелевые объекты [1]. Однако применение препаратов на основе грибов и бактерий встречает ряд трудностей. В частности, микозы насекомых характеризуются длительным латентным периодом. Растянутая во времени гибель наблюдается при заражении гифомицетами насекомых самых различных групп [2–9]. Так, при инфицировании личинок колорадского жука *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill или *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin в лабораторных условиях период от заражения до 95–100% смертности составляет 10–17 сут. В полевых условиях этот период еще более удлиняется – за 2 нед погибает только около 50% личинок, а основная смертность наблюдается при уходе в почву и метаморфозе [10, 11]. Естественно, данный факт ограничивает интерес практиков к энтомопатогенным грибам, поскольку за время латентного развития микоза насекомые могут нанести значительные повреждения растениям.

Для бактериальных инфекций, напротив, характерна достаточно быстрая гибель насекомых (2–7 сут), но при этом не всегда достигается 100% уровень смертности. Активность бактериальных

агентов может сильно зависеть от возраста насекомых. Чаще всего младшие возрасты оказываются чувствительными к энтомопатогенным бактериям, а старшие – весьма устойчивы к ним. Если принять во внимание временное перекрывание всех стадий развития у многих насекомых, в частности у колорадского жука, становится очевидным низкая эффективность бактериальных препаратов.

Повышения общей биологической активности энтомопатогенов, а также сокращения латентного периода инфекции можно добиться при использовании сублетальных доз химических инсектицидов [12–16]. Однако тот же эффект может быть достигнут при использовании смеси энтомопатогенов. При этом возможны сочетания как систематически близких микроорганизмов (грибы + грибы или бактерии + бактерии), так и систематически отдаленных (бактерии + грибы). В частности, рядом авторов [17–20] показана повышенная гибель колорадского жука и картофельной коровки *Henosepilachna vigintioctomaculata* Motsch. при бинарных сочетаниях грибов из родов *Beauveria* и *Paecilomyces*. Аддитивный и синергетический эффекты при совместной обработке членистоногих дейтеромицетами и бактериями *Bacillus thuringiensis* Berliner продемонстрированы на большой вощинной огневке *Galleria mellonella* (L.) [21], паутином клеще *Tetranychus urticae* Koch [22], колорадском жуке [23, 24] и других массовых видах. Ускоренная гибель разных видов саранчовых при сочетании энтомопатогенных гифомице-

тов и неспоровой бактерии *Pseudomonas* sp. установлена нами в серии лабораторных опытов [6, 24].

Следует отметить, что большинство энтомопатогенных микроорганизмов мало исследовано на взаимосовместимость и совместное действие на разных насекомых-хозяев. Представляет интерес комбинирование концентраций патогенных микроорганизмов, поскольку сочетания титров в значительной степени определяют синергетический, аддитивный или нейтральный эффекты.

В ходе работ по отбору штаммов энтомопатогенных грибов и бактерий, патогенных для колорадского жука, нами обнаружены сочетания патогенов, вызывающие высокую гибель личинок в короткий промежуток времени.

Цель работы – изучение динамики смертности личинок колорадского жука при синхронном инфицировании энтомопатогенными гифомицетами и бактерией *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* Bonni-foi & de Barjak var. “tenebrionis” Krieg et al. при различных концентрациях микроорганизмов, а также в зависимости от возраста личинок; оценка биологической эффективности патогенов в естественных условиях.

МЕТОДИКА

Для инфицирования насекомых использовали культуры из коллекции микроорганизмов Института систематики и экологии животных (ИСиЭЖ) СО РАН. Из энтомопатогенных гифомицетов испытывались культуры *M. anisopliae* (штамм Р-72-х) и *B. bassiana* (Сар-31). Штамм Р-72-х выделен из личинок большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* (L.) в ИСиЭЖ СО РАН. Изолят Сар-31 выделен из трупов саранчовых в Новосибирской области. Штамм 2495 *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni* (Н8ab) изолирован из погибшей личинки большого мучного хрущака в лабораторной популяции в ИСиЭЖ СО РАН. В ряде экспериментов использован препарат битоксибациллин (“Сиббиофарм”, г. Бердск) на основе спорокристаллического комплекса *Bacillus thuringiensis* ssp. *thuringiensis* Berliner.

Конидиальную массу грибов наращивали согласно рекомендациям Е.А. Никольской [25] с изменениями. Сначала нарабатывали глубинную культуру на жидкой среде Чапека [26] с пептоном (0.4%) в шейкере при 120 об/мин в течение 6 сут. Затем инокулом (2 мл) вносили в чашки Петри на дважды автоклавированное пшено. После 3 нед культивирования конидиальную массу высушивали при комнатной температуре и измельчали в кофемолке. Бактерии выращивали на мясо-пептонном агаре (МПА) в течение 6 сут затем смывали дистиллированной водой.

Полевые и лабораторные исследования проведены в 2005–2007 гг. в окрестностях г. Алматы на базе лаборатории биотехнологии НИИ защиты растений

Республики Казахстан. В лабораторных экспериментах заражение осуществляли путем однократного погружения насекомых и кормовых растений в водные суспензии с определенным титром конидий грибов, спор и кристаллов бактерий. Личинок содержали в пластиковых стаканах объемом 700 мл, накрытых сверху сеткой. С целью предотвращения высыхания листьев их черешки заворачивали во влажную вату и помещали в пробирки Эппендорф (1.5 мл). Каждый вариант ставился в не менее чем в 4 повторностях по 10–15 особей на повторность. Смену корма и учет смертности проводили каждый день в течение 10–17 сут в зависимости от уровня смертности. Насекомых взвешивали на электронных весах с точностью до 0.001 г.

В полевых опытах участки размером 20–50 м² обрабатывали водной суспензией грибов и бактерий с добавлением Твин-80. Обработку проводили с помощью ручного ранцевого опрыскивателя. Инфекцию вносили из расчета 1 × 10¹³ конидий и 5 × 10¹³ кристаллов на гектар. Плотность насекомых в период экспериментов составляла от 10 до 120 личинок на 1 растение картофеля. Учеты численности проводили на 10 модельных растениях в каждом варианте опыта. В ряде полевых экспериментов насекомых содержали в садках из сетки, надетых на побеги картофеля для точного учета смертности.

При изучении антагонизма дейтеромицетов и бактерий на искусственных питательных средах использовали метод блоков [26]. Блоки среды МПА (диаметр – 9 мм) с 2 сут культурой бактерий помещали на свежепосеянные на среде Ваксмана [26] газоны грибов. Сходным образом изучали влияние грибов на рост бактерий: блоки среды Ваксмана с 5 сут культурой грибов располагали на среде МПА, только что засеянной бактериями.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В лабораторных условиях исследуемый штамм *B. thuringiensis* (5 × 10⁷ спор/мл) вызывал 100% смертность только что отродившихся личинок колорадского жука. При инфицировании средних возрастов отмечалась невысокая гибель (максимум – 60%). Однако при заражении средних возрастов была зарегистрирована слабая повреждаемость листьев и замедленный, по сравнению с контролем, рост личинок. Данные симптомы наблюдались в лабораторных условиях в течение 6–10 сут. Затем часть выживших личинок выздоравливала, и их развитие нормализовалось.

При заражении насекомых грибом *M. anisopliae* 95–100% смертность отмечалась на 6, 11 или 14 сут в зависимости от инфекционной нагрузки (рис. 1а, 1б, 1в). При развитии мюскардиноза не выявлено заметного отставания в росте и ухудшения питания насекомых. Личинки переставали питаться лишь в пери-

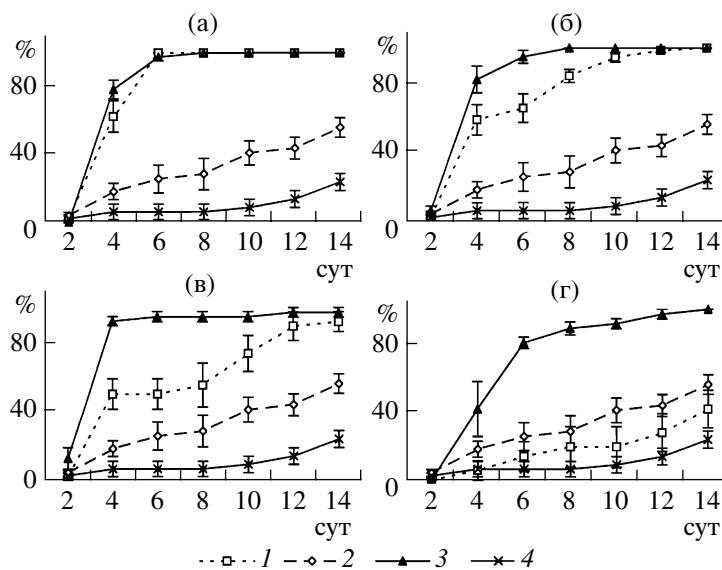


Рис. 1. Смертность (%) личинок III возраста колорадского жука под воздействием *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni* (титр – 5×10^7) и разных концентраций *M. anisopliae*: а – 5×10^7 , б – 1×10^7 , в – 5×10^6 , г – 1×10^6 конидий/мл. 1 – *M. anisopliae*, 2 – *B. thuringiensis*, 3 – *M. anisopliae* + *B. thuringiensis*, 4 – контроль.

од острого микоза при сильной меланизации кутикулы, наблюдавшейся за 1–2 сут до их гибели.

Совместная обработка бактериями и грибами приводила к ускорению гибели личинок и общему повышению уровня смертности. При высоком титре конидий (5×10^7) различия в динамике гибели жука в вариантах “гриб” и “гриб + бактерия” минимальны (рис. 1а). При снижении титра конидий до 1×10^7 и 5×10^6 регистрировались значимые ($P < 0.05$) отличия между данными вариантами. Гибель при смешанной инфекции была выше, чем при монозаражении грибом на 20–45% с 3 по 10 сут после инокуляции (рис. 1б, 1в). Описанный эффект может быть классифицирован, как аддитивный. При уменьшении титра конидий до 1×10^6 наблюдался синергизм действия *M. anisopliae* и *B. thuringiensis*. В данном случае моноинфекция приводила лишь к 40–55% гибели насекомых, а 100% уровень смертности достигался только при бактериомикозе (рис. 1г).

В дальнейших экспериментах использовали минимальную концентрацию конидий гриба (1×10^6) с добавлением различного количества *B. thuringiensis*. В результате отмечено закономерное повышение уровня смертности при увеличении концентрации бактерии (рис. 2). При этом различия между близкими (соседними) вариантами оказались незначительными ($P > 0.05$) на протяжении большего периода эксперимента. Существенные отличия выявлены при изменении титра бактерии от нуля до 5×10^6 или с 5×10^5 до 5×10^7 , причем данная тенденция наблюдалась как при бактериально-грибном инфицировании, так и при монозаражении бактериями (рис. 2б).

Аналогичные результаты получены в лабораторных экспериментах при моно и смешанном инфицировании личинок колорадского жука *B. bassiana* и *B. thuringiensis*.

Установлено, что синергетический эффект от совместного действия грибов и бактерий наблюдается при инфицировании как младших, так средних и старших возрастов личинок колорадского жука (рис. 3). У старших возрастов чувствительность к бактериям значительно снижается, однако для всех личиночных стадий при бактериальной и смешанной инфекции характерно прекращение питания и остановка роста, что не наблюдается при микозе (рис. 3б, 3г, 3е). Замечено, что окукливание

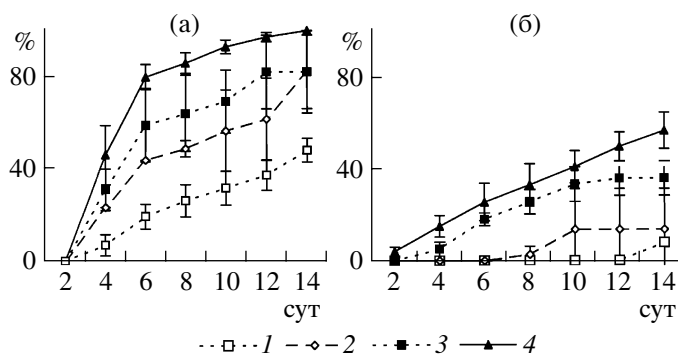


Рис. 2. Смертность (%) личинок III возраста колорадского жука под воздействием *M. anisopliae* (титр – 1×10^6) и разных концентраций *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni*. а – заражение грибом и бактериально-грибными смесями; б – контроль и монозаражение бактериями; 1 – 0, 2 – 5×10^5 , 3 – 5×10^6 , 4 – 5×10^7 спор/мл.

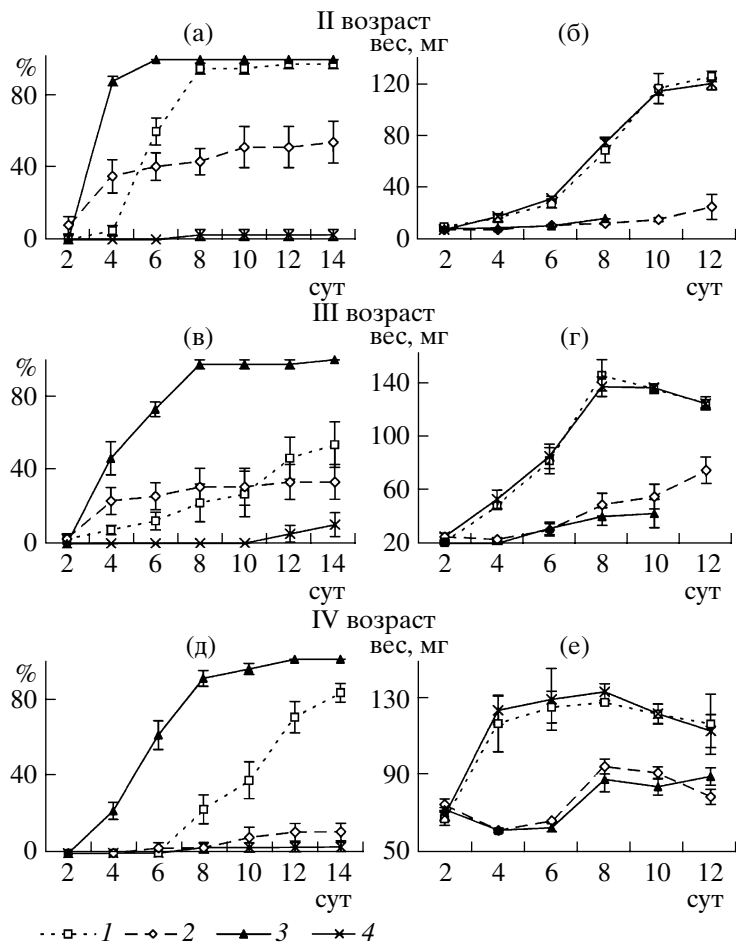


Рис. 3. Смертность (%) и изменение веса личинок разных возрастов колорадского жука при грибной, бактериальной и смешанной инфекции (титр *M. anisopliae* – 5×10^6 , титр *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni* – 2×10^7); а, в, д – смертность личинок II, III, и IV возрастов, б, г, е – изменение веса личинок II, III, и IV возрастов, 1 – *M. anisopliae*, 2 – *B. thuringiensis*, 3 – *M. anisopliae* + *B. thuringiensis*, 4 – контроль.

у насекомых III и IV возрастов, зараженных бактериями, задерживается на 10–15 сут, а более младшие возраста, вообще, крайне редко достигают стадии куколки. В то же время сроки окукливания личинок, зараженных грибами, и нативных особей не отличались. Часто микоз активно развивается уже у куколок, а иногда у имаго [10, 11].

Следует отметить большую устойчивость к грибным патогенам у личинок средних возрастов по сравнению со старшими (рис. 3в, 3д). Это обусловлено тем, что личинки среднего возраста могут “уходить” от микоза в результате линьки. Однако при смешанном инфицировании задержка линьки способствует обострению микоза, что приводит насекомых к гибели.

Таким образом, если при бактериозе значительная часть личинок старших возрастов может выздоравливать, а при грибной инфекции наблюдается активное питание и длительный латентный период,

то заражение насекомых смесью патогенов не дает им питаться, расти и практически не оставляет шансов выжить.

В серии полевых экспериментов при моно- и бинарных инфекциях наблюдалась сходная динамика смертности (рис. 4). Отмечена более растянутая во времени гибель личинок и большее варьирование смертности по повторностям в вариантах с моноинфекциями. Последнее, очевидно, связано с присутствием разных возрастов личинок и большим разнообразием микроклимата в естественных условиях. Биологическая эффективность в разных экспериментах варьировала при внесении бактериально-грибной смеси – 75–95%, при внесении гриба – 20–60%, при внесении бактерии – 50–80% (9 сут после обработки). В вариантах “бактерия” и “бактерия + гриб” на 3–13 сут отмечалась значительная однородность возрастной структуры популяции. Оставшиеся на растениях личинки находились в начале IV возраста. По всей видимости, бо-

лее младшие возраста гибли от патогенов, а взрослые особи уходили на окукливание в почву. Большинство оставшихся личинок имело симптомы бактериоза и микоза: слабый тургор тела, меланистические пятна на кутикуле. Такие особи, как правило, почти не питались и жили не более недели. В то же время в вариантах “гриб” и “контроль” на растениях присутствовали все возрасты насекомых.

В полевых экспериментах в вариантах, включающих *B. thuringiensis*, отмечена слабая повреждаемость листьев. Дефолиация картофеля на 9–12 сут опыта составляла в вариантах “бактерия” и “бактерия + гриб” всего лишь 5–15%, тогда как в варианте “гриб” – 60–80%, а в контроле – 60–100%.

Дополнительно были проведены эксперименты по сравнению динамики смертности при сочетании грибов с *B. thuringiensis* и с битоксибациллином. В лабораторных экспериментах не выявлено существенных отличий в динамике смертности личинок в опытах *M. anisopliae* + *B. thuringiensis* и *M. anisopliae* + битоксибациллин, но в естественных условиях различия в течение этих смешанных инфекций оказались значительными. В полевых экспериментах динамика смертности насекомых при обработке смесью гриба и битоксибациллина не отличалась от таковой при монозаражении грибом. Уровень смертности насекомых при обработке чистым битоксибациллином также был значительно ниже по сравнению с моноинфекцией *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni*. Так, смертность от битоксибациллина на 17 сут составила всего 25%, тогда как от *B. thuringiensis* – до 81%. Данные результаты согласуются с работами других авторов [27], в которых показана большая эффективность препарата Колорадо, изготовляемого на основе *B. thuringiensis*, по сравнению с битоксибациллином.

Изучение взаимодействия грибов и бактерий на искусственных питательных средах показало, что *B. thuringiensis* не влияет на рост и развитие *M. anisopliae* и *B. bassiana*. Зоны угнетения роста и споруляции гиомицетов отсутствовали. Кроме того, блоки МПА с бактериями колонизировались обоими видами гиомицетов. Также не выявлено угнетения роста бацилл грибом *B. bassiana*. При исследовании влияния *M. anisopliae* на *B. thuringiensis* отмечено некоторое подавление роста бактерий: 6-миллиметровые зоны угнетения роста вокруг блоков гриба регистрировались в течение 15–20 ч после посева бактериальных культур. В дальнейшем эти зоны колонизировались *B. thuringiensis* ssp. *morrisoni*.

Синергетический или аддитивный эффекты при инфицировании насекомых бактериально-грибными смесями, по всей видимости, обусловлен 3 основными причинами. Во-первых, бактериальная инфекция приводит непосредственно к гибели насекомых в первые сутки после инфицирования, а выжившая часть особей погибает в дальнейшем от микозов, что и дает эффект ускоренной гибели.

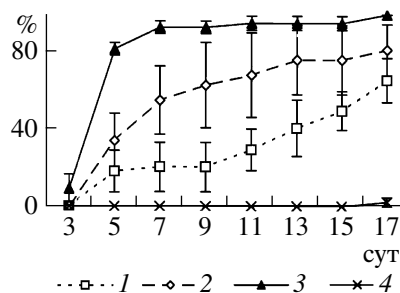


Рис. 4. Смертность (%) личинок колорадского жука в полевом эксперименте под воздействием *M. anisopliae* (1×10^7 конидий/мл) и *B. thuringiensis morrisoni* (5×10^7 спор/мл); 1 – *M. anisopliae*, 2 – *B. thuringiensis*, 3 – *M. anisopliae* + *B. thuringiensis*, 4 – контроль.

Во-вторых, в результате дисфункции кишечника и общей интоксикации организма, вызванных бактериями, у насекомых ухудшается питание, замедляется рост, удлиняется межлиночный период и может нарушаться метаморфоз во время линьки (иногда личинки не способны сбросить старый хитиновый покров). Задержка роста и линьки благоприятствует проникновению гифальных тел гриба в кутикулу и гемолимфу и приводит к ускоренному течению микоза у насекомых. В этом случае эффект повышенной смертности сходен с таковым при голодании насекомых. Так, М. Фурлонгом и Е. Гроденом [28] было показано, что 24 ч голодание личинок колорадского жука повышает их восприимчивость к *B. bassiana*. В-третьих, возможно, заражение грибом повышает восприимчивость личинок к бактериальному заболеванию [21].

Выявленные сочетания грибов и бактерий могут быть перспективными для создания комбинированных препаратов с высокой летальной эффективностью для колорадского жука. Комплексный препарат будет активен при временном перекрытии разных возрастов вредителя. За счет бактерии будет предотвращаться дефолиация картофеля, а за счет гриба будет происходить непосредственно гибель насекомых и снижение численности следующего поколения жука.

Авторы признательны коллективу лаборатории биотехнологии НИИЗР (Республика Казахстан) за помощь в организации экспериментов.

Работа поддержана РФФИ (грант 09-04-0380), Интеграция СО РАН (грант № 46).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / Ред. В.В. Глугов. М.: Круглый год, 2001. 736 с.
2. Архипова В.Д. // Энтومол. обозрение. 1965. Т. 44. № 1. С. 89–99.
3. Половинко Г.П., Наумова Е.Н. // Регуляция численности беспозвоночных и фитопатогенов. Новосибирск, 2008.

- бирск: Изд-во Новосиб. гос. аграрн. ун-та, 1997. С. 42–46.
4. Половинко Г.П. // Биол. науки Казахстана. 2006. № 1–2. С. 6–17.
 5. Огарков Б.Н., Огаркова Г.Р. Энтомопатогенные грибы Восточной Сибири. Иркутск: Изд-во Иркутск. ун-та, 2000. 134 с.
 6. Леднев Г.Р., Крюков В.Ю., Ходырев В.П., Левченко М.В., Дуйсембеков Б.А., Сагитов О.А., Глунов В.В. // Сиб. экол. журн. 2007. № 4. С. 527–531.
 7. Геитовт Н.Ю. Энтомопатогенные грибы (биотехнологические аспекты). Алматы: Изд-во НИИ защиты растений, 2002. 288 с.
 8. Luz K., Digano M.S., Silva I.G., Gordeiro C.M., Aljandabi S.M. // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1998. V. 93. № 6. P. 839–846.
 9. Lomer C.J., Bateman R.P., Johnson D.L., Lagewald J., Thomas M. // Annu. Rev. Entomol. 2001. V. 46. P. 667–702.
 10. Сикура А.И., Ижевский С.С., Трофимова И.Л. Микробиологические средства борьбы с колорадским жуком. М.: Изд-во ВНИИ ТЭиСХ, 1979. 52 с.
 11. Крюков В.Ю., Серебров В.В., Малайчук А.А., Копжасаров Б.К., Мухамедиев Н.С., Орынбаева А.К., Ходырев В.П. // Сиб. вестник сельхоз. науки. 2007. № 4. С. 52–60.
 12. Бенц Г. // Микроорганизмы в борьбе с вредными насекомыми и клещами / Ред. М.С. Гиляров. М.: Колос, 1976. С. 105–123.
 13. Серебров В.В., Киселев А.А., Глунов В.В. // Микология и фитопатология. 2003. Т. 1. № 37. С. 76–82.
 14. Серебров В.В., Гербер О.Н., Ходырев В.П., Цветкова В.П. // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. № 3. С. 89–98.
 15. Delgado F.X., Britton J.H., Onsager J.A. // J. Invertebr. Pathol. 1999. V. 73. № 1. P. 34–39.
 16. Furlong M.J., Groden E. // J. Econ. Entomol. 2001. V. 94. № 2. P. 344–356.
 17. Клочко М.Д. // Труды ВИЗР. 1965. Т. 6. № 24. С. 187–189.
 18. Bajan C., Kmitova K. // Ecologia Polska. 1972. V. 20. №. 32. P. 423–432.
 19. Kmitova K., Bajan C. // Ecologia Polska. 1972. V. 20. №. 31. P. 413–421.
 20. Bajan C. // Ecologia Polska. 1973. V. 21. №. 46. P. 715–729.
 21. Логинов Е.В., Павлюшин В.А. // Интегрированная защита растений от вредителей. Новосибирск: Изд-во Сиб. отд. ВАСХНИЛ, 1987. С. 123–134.
 22. Андреева И.В., Штерншис М.В. // Регуляция численности беспозвоночных и фитопатогенов. Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. аграрн. ун-та, 1997. С. 19–23.
 23. Wraight S.P., Ramos M.E. // J. Invertebr. Pathol. 2005. V. 90. № 3. P. 139–150.
 24. Крюков В.Ю., Леднев Г.Р., Дубовский И.М., Серебров В.В., Левченко М.В., Ходырев В.П., Сагитов А.О., Глунов В.В. // Евразийский энтомол. журн. 2007. Т. 6. № 2. С. 195–204.
 25. Никольская Е.А. // Методы экспериментальной микологии / Ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. С. 106–137.
 26. Литвинов М.А. Методы изучения почвенных микроскопических грибов. Л.: Наука, 1969. 124 с.
 27. Азизбекян Р.Р., Шагов М.М., Миненкова И.Б. // Производство экологически безопасной продукции растениеводства. Пущино: ИПНЦ РАН. 1995. С. 203–205.
 28. Furlong M.J., Groden E. // J. Invertebr. Pathol. 2003. V. 83. № 2. P. 127–138.

Synergistic Action of Entomopathogenic Hyphomycetes and the Bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* in the Infection of Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata*

V. Yu. Kryukov^a, V. P. Khodyrev^a, O. N. Yaroslavtseva^a, A. S. Kamenova^b,
B. A. Duisembekov^b, and V. V. Glupov^a

^a Institute of Animal Systematics and Ecology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630091 Russia;
e-mail: krukoff@mail.ru

^b Institute of Plant Protection and Quarantine, Almaty oblast, 040924 Kazakhstan

Received January 31, 2008

Abstract—A synchronous coinfection of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say) with the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* Bonifoi & de Barjak var. *tenebrionis* Krieg et al. and hyphomycete *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin or *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill leads to the rapid death of 95–100% of larvae. The bacteria arrest the nutrition of insects, while the fungal spores kill the weakened larvae. The synergistic effect of two pathogens is recorded at a relatively low hyphomycete titer ($1-5 \times 10^6$ conidia/ml) and is evident in the mortality dynamics at all larval ages. These bacterial and fungal pathogens display no antagonism on artificial nutrient media. This microbial complex is highly efficient under natural conditions (80–90% larval mortality rate and no plant defoliation).