

УДК 574.23:575.174.015.3

## ИЗМЕНЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ПРЕФЕРЕНДУМОВ ИЗОЛЯТОВ *BEAUVERIA BASSIANA* В ШИРОТНОМ ГРАДИЕНТЕ СИБИРИ И КАЗАХСТАНА

© 2012 г. В. Ю. Крюков<sup>1,\*</sup>, О. Н. Ярославцева<sup>1</sup>, Е. А. Елисафенко<sup>2</sup>, П. В. Митьковец<sup>3</sup>, Г. Р. Леднев<sup>3</sup>, Б. А. Дуйсембеков<sup>4</sup>, С. М. Закиян<sup>2</sup>, В. В. Глупов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup>Всероссийский институт защиты растений РАСХН, Санкт-Петербург—Пушкин

<sup>4</sup>КазНИИ защиты и карантина растений, Алматинская обл., Казахстан

Поступила в редакцию 25.11.2011 г.

Проведено исследование мицелиального роста в диапазоне 5–35°C у 20 изолятов энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*, выделенных в разных природных зонах Западной Сибири и Казахстана (от 65° до 43° с.ш.). Показано, что в направлении север—юг у популяций гриба достоверно увеличивается толерантность к повышенным температурам, что согласуется с хорошо выраженной широтной зональностью исследуемой территории. Изменение в холодовой активности культур прослеживалось менее четко, и не было достоверно скоррелировано с широтой местности и теплообеспеченностью регионов. Анализ геномного полиморфизма с использованием 7 мультилокусных межмикросателлитных ДНК-маркеров (ISSR) показал значительную обособленность степных толерантных к высокой температуре (35°C) изолятов гриба. Установлено, что именно степные изоляты характеризуются наиболее высоким уровнем вирулентности и способностью формировать дочернюю инфекцию на пораженных хозяевах при повышенных температурах (>30°C). Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее перспективным для контроля численности насекомых в условиях континентального и аридного климата, будет использование изолятов, выделенных в степных ландшафтах.

**Ключевые слова:** *Beauveria*, широтная зональность, температура, радиальный рост, вирулентность, геномный полиморфизм, адаптация, *Leptinotarsa*.

Анаморфный аскомицет *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. — один из наиболее распространенных в мире энтомопатогенных грибов, поражающий насекомых разных отрядов и активно используемый для создания экологически безопасных инсектицидных препаратов [1–3]. Известно, что разные штаммы гриба могут проявлять разную устойчивость к лимитирующим абиотическим факторам среды и, в частности, повышенным или пониженным температурам [4–6]. Температурные границы мицелиального роста гриба лежат в пределах 5–37°C с оптимумом между 20–28°C [5–8]. Ряд авторов при изучении культур из разных географических регионов мира отмечали, что с понижением широты местности увеличивается термотолерантность популяций разных видов энтомопатогенных грибов [9–11] или, напротив, в более высоких широтах увеличивается их холодовая активность [6, 11]. Однако в других исследованиях подобных закономерностей не выявлено [5, 6, 12]. Недостаточно изученным остается во-

прос о генетической общности штаммов с определенными температурными предпочтениями [13].

Равнинные территории Западной Сибири и Казахстана представляют собой уникальный регион для исследования температурных предпочтений микроорганизмов в градиенте север—юг, поскольку на данной территории идеально выражена широтная зональность [14] и, кроме того, данному региону свойственна высокая сохранность естественных ландшафтов [15].

Поиск штаммов энтомопатогенных грибов с разными температурными предпочтениями актуален и с прикладной точки зрения, поскольку в условиях континентального и аридного климата высокие температуры являются одним из основных лимитирующих факторов использования биопрепаратов на основе энтомопатогенных грибов [13]. Следует отметить, что рядом авторов показана взаимосвязь между устойчивостью к высоким или низким температурам у грибов, определяемой в различных тестах *in vitro*, и способностью инфицирования насекомых-хозяев при субоптималь-

<sup>1</sup> Автор для корреспонденции (e-mail: [krukoff@mail.ru](mailto:krukoff@mail.ru)).

Исследуемые изоляты *Beauveria bassiana*

№ п/п	Изолят	Природная зона	Место изоляции	Широта	Долгота
1	N-2	Л-Т	г. Надым	65°29'	72°31'
2	As-584	Л-Т	100 км Ю г. Салехард	65°23'	64°42'
3	As-588	Л-Т	100 км Ю г. Салехард	65°23'	64°42'
4	As-589	Л-Т	100 км Ю г. Салехард	65°23'	64°42'
5	Bol-1	Л-С	Новосибирская обл. г. Болотное	55°41'	84°22'
6	Bol-2	Л-С	Новосибирская обл. г. Болотное	55°41'	84°22'
7	Bol-4	Л-С	Новосибирская обл. г. Болотное	55°41'	84°22'
8	K-18	Л-С	Новосибирская обл. с. Репьево	55°04'	83°31'
9	Zh-17	Л-С	Новосибирская обл. с. Жеребцово	55°06'	83°18'
10	Bs-4	Л-С	Новосибирская обл. с. Новососедово	54°37'	83°57'
11	I-2	Л-С	Новосибирская обл. с. Бурмистрово	54°38'	82°47'
12	Uns-3	С-С	Новосибирская обл. г. Карасук	53°45'	77°42'
13	ВВК-1	С-С	Новосибирская обл. г. Карасук	53°42'	78°10'
14	Sar-31	С-С	Новосибирская обл. г. Карасук	53°41'	78°02'
15	Sem-2	С-С	С-В Казахстан г. Семей	50°22'	80°22'
16	Sem-3	С-С	С-В Казахстан г. Семей	50°22'	80°22'
17	Uk-2	Ю-С	Ю-В Казахстан, 70 км З г. Алматы	43°25'	75°50'
18	Uk-4	Ю-С	Ю-В Казахстан, 70 км З г. Алматы	43°25'	75°50'
19	Uk-5	Ю-С	Ю-В Казахстан, 70 км З г. Алматы	43°25'	75°50'
20	Uk-6	Ю-С	Ю-В Казахстан, 70 км З г. Алматы	43°25'	75°50'

Примечание. Л-Т – лесотундра, Л-С – лесостепь, С-С – северная (разнотравно-дерновинно-злаковая) степь, Ю-С – южная (опустыненная) степь.

ных для микромицетов температурных режимах [11, 16, 17]. Однако другие исследователи не выявили подобных тенденций [18].

В связи с этим, целью настоящей работы явилась оценка мицелиального роста в температурном диапазоне 5–35°C у изолятов *Beauveria bassiana*, выделенных в разных природно-климатических зонах Западной Сибири и Казахстана (65°–43° с.ш.), анализ их генетических различий, а также изучение вирулентных свойств культур при разных температурных условиях.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Культуры грибов.** В работе использованы 20 изолятов *Beauveria bassiana* из коллекций энтомопатогенных микроорганизмов Института систематики и экологии животных (ИСиЭЖ СО РАН) и Всероссийского института защиты растений (ВИЗР РАСХН), выделенных на территории Западной Сибири и Казахстана (таблица). Культуры выделены в равнинных или низкогорных (до 700 м н.у.м.) районах из насекомых разных систематических групп или из почвы в типичных для природных зон биоценозах. В зависимости от районов выделения изоляты были сгруппированы в 4 группы: 1) лесотундровые,

2) лесостепные, 3) северо-степные (из зоны разнотравно-дерновинно-злаковых степей), 4) южно-степные (из опустыненных степей предгорьев Тянь-Шаня). Штаммы поддерживали на искусственных питательных средах (ИПС) Чапека и Ваксмана [19] при 4°C и пересеивали с периодичностью 1 раз в год.

**Анализ радиального роста на ИПС.** Исследование мицелиального роста культур проводили на агаризованной среде Ваксмана. Из 4-суточных культур, посеянных газоном, вырезали блоки диаметром 8 мм и помещали на среду в центр чашек Петри диаметром 90 мм. Культуры инкубировали в термостатах при 5, 10, 15, 20, 25, 30 и 35°C. В диапазоне температур 10–35°C за точку учета эксперимента были взяты 14 сут, когда при оптимальных температурах наиболее быстрорастущие колонии достигали краев чашек Петри. Измерение колоний проводили крест-накрест с точностью до 1 мм. При анализе данных для нивелирования индивидуальных различий в скорости роста изолятов вводили коэффициент:  $у.е. = a/b \times 100\%$ , где  $у.е.$  – условные единицы роста (относительный рост),  $a$  – диаметр колонии изолята при определенной температуре,  $b$  – диаметр колонии изолята при оптимальной температуре (для большинства культур – 25°C). При анализе

радиального роста культур при 5°C за точку учета брали 60 сут и использовали только абсолютный показатель (диаметр колоний, мм). Все эксперименты ставили в 3 повторностях. Данные проанализированы с помощью многофакторного анализа (ANOVA, STATISTICA 6). Для оценки достоверности отличий использовали критерий Фишера.

**Анализ генетических различий.** Для анализа генетических отличий были использованы 7 ISSR праймеров, предложенных Эстрада и соавт. [20] для изучения биоразнообразия и филогенетических связей штаммов *B. bassiana*: 808 – (AG)<sub>8</sub>C; 809 – (AG)<sub>8</sub>G; 818 – (CA)<sub>8</sub>G; 842 – (GA)<sub>8</sub>YG; 885 – VHV(GA)<sub>7</sub>; 889 – DBD(AC)<sub>7</sub>; 891 – HVH(GT)<sub>7</sub>.

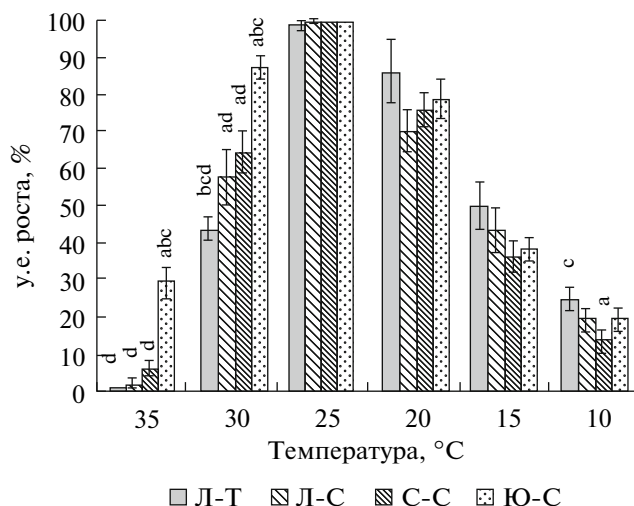
Культивирование грибов для выделения ДНК проводили в жидкой среде Чапека с пептоном (0.4%) в течение 5 сут на ротационном шейкере при 110 об/мин и 26°C. Полученную биомассу отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием. Выделение ДНК проводили из 100 мг осажденного мицелия при помощи набора DNeasy Plant Mini Kit фирмы “QIAGEN” согласно методике производителя.

ПЦР реакцию проводили в 25 мкл смеси, содержащей 2.5 мкл 10× ПЦР буфера (100 мМ KCl, 200 мМ Tris-HCl pH 8.8, 0.1% Triton X-100), 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.2 мМ каждого из дНТФ, 5 пмол праймера, 50 нг ДНК-матрицы и 1.25 ед. Taq-полимеразы (“СибЭнзим”).

Аmplификация образцов была выполнена на амплификаторе БИС-110. Условия ПЦР реакции: денатурация – 94°C, 5 мин; отжиг – 94°C – 30 с, 52°C – 40 с, 72°C – 40 с, 35 циклов; элонгация – 72°C – 15 мин. Анализ полученных ПЦР-фрагментов ДНК проводили при помощи электрофореза в 1.5% агарозном геле с бромистым этидием.

Для определения уровня генетического сходства изолятов составляли суммарную бинарную матрицу, в которой отмечалось присутствие или отсутствие полосы на электрофореграмме. Для построения дендрограммы был применен метод полной связи с использованием программы STATISTICA 6.

**Оценка вирулентных свойств.** При изучении уровня вирулентности изолятов при разных температурных режимах использовали гусениц 2–3 возрастов большой воцинной огневки *Galleria mellonella* L. и личинок 4 возраста колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say. Биотестирование проводили по стандартным методикам, описанным ранее [21, 22]. После заражения насекомых помещали на 10–15 сут в температурные условия оптимальные для течения микозов (21 или 25°C) и неблагоприятные для их развития (30 или 33°C). Контроль температуры осуществляли каждые 60 мин с помощью автономных регистраторов температуры (“Рэлсиб”), помещенных в контейнеры с насекомыми. Погибших насекомых раскладывали на увлажненную фильтровальную

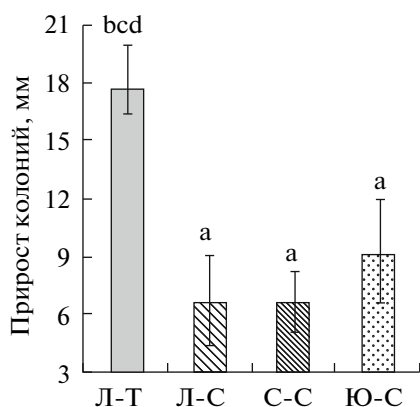


**Рис. 1.** Относительный радиальный рост 20 изолятов *B. bassiana* из разных широтных зон Западной Сибири и Казахстана. Обозначение зон согласно таблице. Достоверные ( $P < 0.05$ ) отличия: а – от Л-Т; б – от Л-С; с – от С-С; d – от Ю-С. Вертикальные линии – ошибки средних арифметических.

бумагу в чашки Петри и также помещали в разные температурные условия, для установления возможности образования дочернего спороношения грибов. Для оценки достоверности различий в смертности насекомых и формировании спороношения на трупах использовали критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

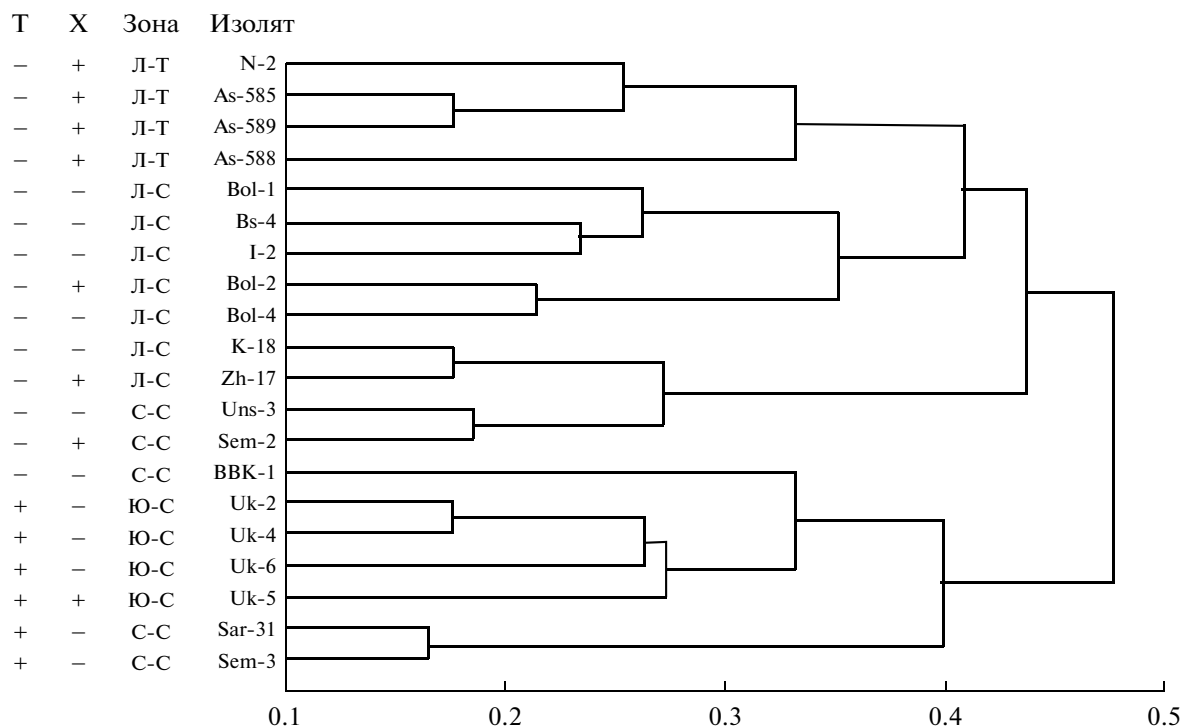
**Анализ радиального роста на ИПС.** Средний оптимум мицелиального роста у всех групп изолятов составил 25°C, при этом изоляты из южных широт были более толерантны к высоким температурам по сравнению с северными (рис. 1). Так при наиболее высокой температуре (35°C) мицелиальный рост проявили все культуры, выделенные в южной (опустыненной) степи, а также часть культур, изолированных в северной (разнотравно-дерновинно-злаковой) степи: Sem-3, Sar-31. Достоверные отличия в скорости радиального роста изолятов отмечены при 30°C, где четко прослеживалась закономерность более активного роста южных культур по сравнению с северными. При пониженных температурах (15–10°C) в большинстве случаев не отмечено достоверных отличий между северными и южными изолятами, однако наблюдалась тенденция более быстрого роста лесотундровых культур. При более сильном понижении температуры (5°C) различия между лесотундровыми и более южными изолятами оказались достоверными (рис. 2). Выявлена достоверная отрицательная корреляция между ростом колоний (у.е.) при повышенных температурах и широтой



**Рис. 2.** Радиальный рост 20 изолятов *B. bassiana* из разных широтных зон Западной Сибири и Казахстана при 5°C. Обозначения как на рис. 1.

местности:  $r = -0.70$ ,  $P = 0.0005$  (рост при 30°C) и  $r = -0.76$ ,  $P = 0.0001$  (рост при 35°C), а также прямая корреляция между суммой положительных температур выше 10°C в регионах и ростом колоний при 30 и 35°C:  $r = 0.71$ ,  $P = 0.0005$  и  $r = 0.81$ ,  $P = 0.00001$  соответственно. Корреляционный анализ между ростом колоний при низких температурах и широтой местности либо суммой положительных температур в регионах не выявил достоверных взаимосвязей ( $r < 0.43$ ,  $P > 0.05$ ).

**Анализ генетических различий.** Анализ профилей ISSR PCR выявил полиморфизм всех исследуемых культур грибов. Количество уникальных (неповторяющихся) профилей составляло в зависимости от используемого праймера от 50% (праймер 885) до 100% (праймеры 818, 842). На дендрограмме сходства (рис. 3) в первую очередь четко обособилась группа южно- и северо-степных изолятов, проявляющих мицелиальный рост при высоких температурах (35°C). В эту группу попал только 1 изолят (ВВК-1), не проявляющий данного свойства. Другой блок дендрограммы включил нетолерантные к высоким температурам культуры, которые сгруппировались в 3 крупные ветви: лесотундровая, лесостепная и смешанная (лесостепная и северо-степная). Следует отметить, что на ряде ISSR профилей (рис. 4) характерно присутствие уникальных полос, свойственных именно для тех культур, которые способны к росту при 35°C. В целом на данном электрофорезе для термотолерантных изолятов (Sar-31, Sem-3, Uk-2, Uk-4, Uk-5, Uk-6) характерно значительное сходство спектров ISSR, несмотря на географическую удаленность их происхождения (рис. 4, профили 14, 16–20). Это говорит о возможности использования ISSR профилей для идентификации культур, толерантных к высокой температуре.



**Рис. 3.** Дендрограмма генетических связей между изолятами из разных природно-климатических зон Западной Сибири и Казахстана на основе сопоставления профилей 7 ISSR праймеров. Т – толерантность к повышенным температурам (способность к росту при 35°C); Х – холодовая активность (рост при 5°C более 1 см за 60 сут). Обозначения природных зон согласно таблице.

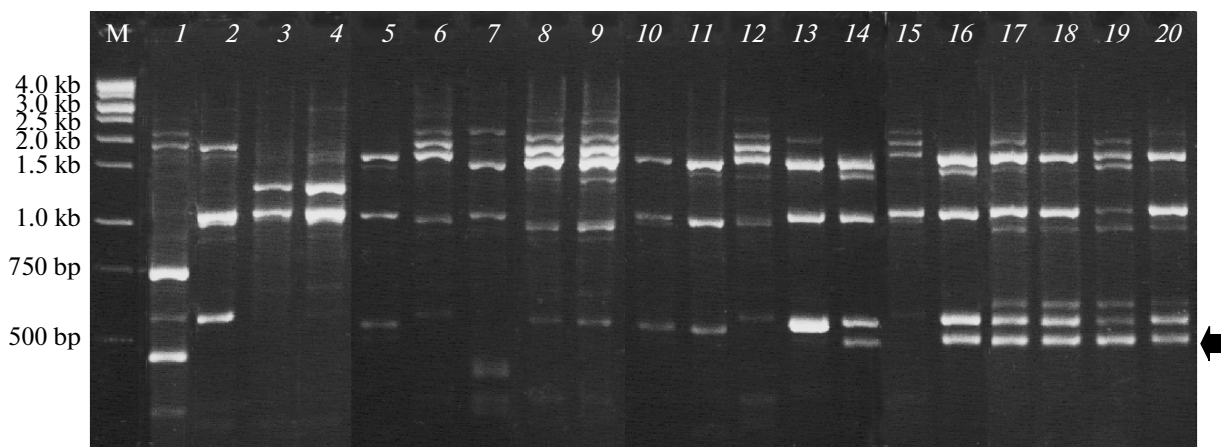


Рис. 4. Электрофореграмма праймера 891 для изолятов *B. bassiana*. Номера изолятов соответствуют таблице. Стрелой обозначена полоса, уникальная для культур, толерантных к 35°C.

**Оценка вирулентных свойств.** Для изучения вирулентности изолятов при разных температурных режимах были отобраны 5 степных культур, способных к мицелиальному росту при 35°C (Sem-3, Uk-2, Uk-4, Uk-5, Uk-6) и 5 лесостепных изолятов не растущих при данной температуре (K-18, Zh-17, Bs-4, Vol-2, I-2). В экспериментах на *G. mellonella* установлено, что при оптимальной для грибов температуре (26°C) различия в вирулентности между степными и лесостепными группами изолятов отсутствуют (рис. 5), но при повышенных температурах (30°C) более высокую вирулентность показывают степные изоляты, а при еще более высоких (33°C) микозы способны вызывать только степные культуры. Сходные результаты были получены при инфицировании личинок *L. decemlineata*, помещенных в различные

температурные условия (рис. 6). Кроме того, показано, что при повышенных температурах (33°C) способность завершать жизненный цикл и продуцировать дочернюю инфекцию на мумифицированных насекомых проявляют в основном только степные изоляты гриба. Так при 25°C процент трупов *L. decemlineata*, обросших мицелием составил  $79 \pm 8.2\%$  и  $74 \pm 7.1\%$  для лесостепных и степных культур соответственно ( $P > 0.05$ ). Однако при температуре 33°C уровень данного показателя составил  $5 \pm 1.9\%$  для лесостепных изолятов и  $66 \pm 14.7\%$  для степных культур ( $P < 0.005$ ).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало более активный рост южных изолятов по сравнению с се-

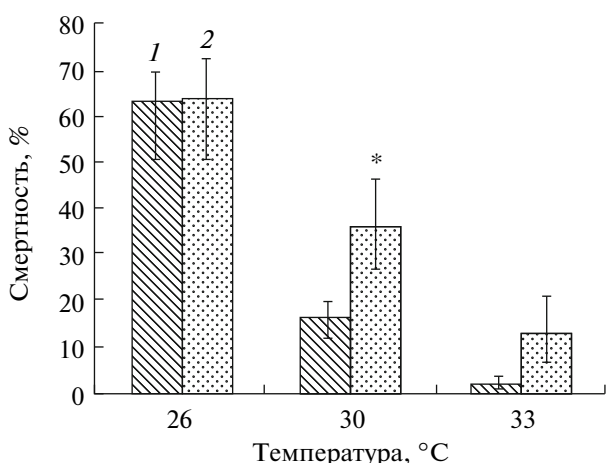


Рис. 5. Вирулентность лесостепных (1) и степных (2) изолятов *B. bassiana* по отношению к личинкам *Galleria mellonella* при различных температурных условиях. Титр суспензии –  $2.5 \times 10^7$  конидий/мл, длительность опыта – 15 сут, \* –  $P < 0.05$ .

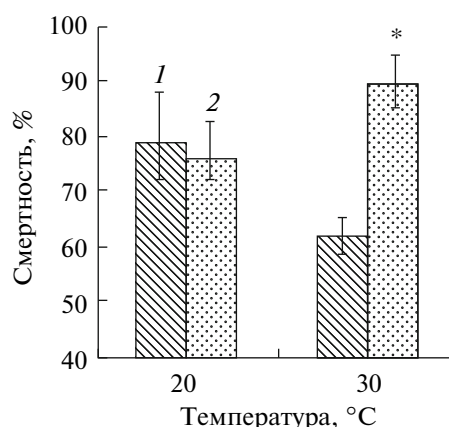


Рис. 6. Вирулентность лесостепных (1) и степных (2) изолятов *B. bassiana* по отношению к личинкам *Leptinotarsa decemlineata* при различных температурах. Титр суспензии –  $2.5 \times 10^7$  конидий/мл, длительность опыта – 10 сут, \* –  $P < 0.05$ .

верными при высоких температурах (30–35°C), тогда как изменения в холодовой активности прослеживались в исследуемой группе изолятов слабее. Ранее Фаргьюс и соавт. [5] не обнаружили взаимосвязей между ростом колоний *Beauveria bassiana* в диапазоне 8–37°C и происхождением изолятов из различных природно-климатических зон Северной и Южной Америки, Европы, Африки, Китая и др. Фернандес и соавт. [6] изучали устойчивость к высоким температурам и холодовую активность 53 изолятов *B. bassiana* из Бразилии и США. Авторы показали, что изоляты из более высоких широт (25°–46°) обладают более высокой холодовой активностью, по сравнению с изолятами из низких широт (0°–22°). Однако исследователи не обнаружили никакой взаимосвязи между и широтой местности и устойчивостью грибов к высоким температурам. Авторы объясняют это тем, что популяции *B. bassiana* могут быть адаптированы не только к климатическим зонам в целом, но и конкретным станциям внутри них. Также, возможно, отсутствие данной корреляции было связано с тем, что в работах не учитывалась высота местности и теплообеспеченность регионов.

Проведенное нами исследование согласуется с данными Бидочка и соавт. [11], исследовавшими штаммы *B. bassiana* с территории Канады и США. На основе аллозимного анализа исследователями показана четкая обособленность генетических групп штаммов, выделенных из арктических, лесных и агроландшафтов. При этом изоляты из агроландшафтов были более адаптированы к высоким температурам (37°C), тогда как лесные и арктические изоляты — к низким (8°C). Кроме того, способность к росту на ИПС и вирулентность по отношению к тест-насекомым (*G. mellonella*, *Tenebrio molitor* L.) при разных температурах были взаимосвязаны. В более ранней работе авторов [23] на основе анализа аллозимов, RAPD и RFLP PCR показано четкое разделение канадских штаммов *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sogoin на 2 группы: лесные, проявляющие большую холодовую активность, и выделенные в агроландшафтах, характеризующиеся толерантностью к высоким температурам.

Полученные результаты также согласуются с данными Видал и соавт. [9], показавшими, что изоляты *Isaria fumosorosea* Wize, выделенные на территории Индии проявляют более высокую толерантность к высокой температуре по сравнению с культурами, изолированными в Западной Азии или на юге Северной Америки. Последние, в свою очередь, оказались более термотолерантными чем европейские. Рэнджел и соавт. [10] установили, что изоляты *Metarhizium*, выделенные из высоких широт (36°–61°) более чувстви-

тельны к тепловому стрессу, чем изолированные в регионах близких к экватору.

Ранее нами на примере группы изолятов, выделенных на ограниченной территории (Новосибирская область), было показано, что специализация культур *B. bassiana* не связана с их происхождением от хозяев тех или иных систематических групп [21]. Подобные результаты были получены другими авторами на основе использования различных молекулярно-генетических методов [11, 24]. Однако специализация энтомопатогенных грибов может быть связана с факторами среды, действующими на оба звена системы насекомое-энтомопатоген [13, 25, 26]. Например, было показано, что штаммы *B. bassiana*, выделенные из саранчовых, более термотолерантны чем культуры, изолированные из насекомых других систематических групп [5], что вероятно связано со средой обитания саранчовых и их способностью повышать температуру тела при микозах [27]. Соответственно, успешно, инфицировать саранчовых и завершать жизненный цикл на этих хозяевах в большей мере способны штаммы грибов, адаптированные к повышенной температуре. По всей видимости, в дифференциации внутривидовых форм *B. bassiana* ведущую роль имеют именно условия обитания хозяев и, в частности, абиотические факторы среды.

Полученные нами данные позволяют с большой степенью вероятности предположить, что наиболее перспективным для создания биопрепаратов, высокоэффективных в условиях континентального климата, будет использование изолятов, выделенных в степных ландшафтах. Проведенные эксперименты свидетельствуют о том, что, способность к мицелиальному росту при 35°C, а также уникальные ISSR профили могут являться маркерами толерантности штаммов к повышенным температурам и данные тесты могут использоваться для отбора культур — потенциальных продуцентов биопрепаратов.

Авторы искренне признательны к.б.н. А.В. Александровой (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) за любезно предоставленные культуры грибов с севера Западной Сибири; к.б.н. В.А. Шило, А.В. Ковалеву (Карасукская биостанция ИСиЭЖ СО РАН), К.Н. Мелентьеву (Новосибирский государственный университет) и Е.А. Лушиной (Новосибирский государственный аграрный университет) за помощь в проведении экспериментов. Работа поддержана грантами Президиума СО РАН, Президента РФ и Мэрии Новосибирской области.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Charnley A.K., Collins S.A. Entomopathogenic fungi and their role in pest control // Environmental and microbial relationships. The Mycota: A comprehensive



- treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research / Eds. Kubicek C.P., Esser K., Druzhinina I.S. Springer, 2007. P. 159–187.
2. Wraight S.P., Inglis G.D., Goettel M.S. Fungi // Field manual of techniques in invertebrate pathology. Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests / Eds. Lacey L.A., Kaya H.K. Springer, 2007. P. 223–248.
  3. Meyling N.V., Hajek A.E. Principles from community and metapopulation ecology: application to fungal entomopathogens // *BioControl*. 2010. V. 55. № 1. P. 39–54.
  4. Ильичева С.Н., Алешина О.А., Кононова Э.И., Юршенене Я.Э. Влияние температуры на развитие гриба *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. // *Микология и фитопатология*. 1976. Т. 10. Вып. 2. С. 87–92.
  5. 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. V. 89. № 3. P. 383–392.
  6. 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. V. 98. № 1. P. 69–78.
  7. Fargues J., Maniania N.K., Delmas J.C., Smits N. Influence of temperature on *in vitro* growth of entomopathogenic hyphomycetes // *Agronomie*. 1992. V. 12. № 7. P. 557–564.
  8. Kassa A. Development and testing of mycoinsecticides based on submerged spores and aerial conidia of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for control of locusts, grasshoppers and storage pests. Doctoral diss. Göttingen: Georg-August-University, 2003. 170 p.
  9. Vidal C., Fargues J., Lacey L.A. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: effect of temperature on vegetative growth // *J. Invertebr. Pathol.* 1997. V. 70. № 1. P. 18–26.
  10. Rangel D.E., Braga G.U., Anderson A.J., Roberts D.W. Variability in conidial thermotolerance of *Metarhizium anisopliae* isolates from different geographic origins // *J. Invertebr. Pathol.* 2005. V. 88. № 2. P. 116–125.
  11. 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. Microbiol.* 2002. V. 178. № 6. P. 531–537.
  12. Devi K.U., Sridevi V., Mohan Ch.M., Padmavathi J. Effect of high temperature and water stress on *in vitro* germination and growth in isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin // *J. Invertebr. Pathol.* 2005. V. 88. № 3. P. 181–189.
  13. Vidal C., Fargues J. Climatic constraints for fungal biopesticides // *Use of entomopathogenic fungi in biological pest management* / Eds. Ekesi S., Maniania N.K. Kerala, India: Research Signpost, 2007. P. 39–55.
  14. Сляднев А.П. Географические основы климатического районирования и опыт его применения на юго-востоке Западно-Сибирской равнины // *География Западной Сибири*. Новосибирск: Зап. Сиб. Книжное изд-во, 1965. С. 3–121.
  15. Мордкович В.Г. Феномен лесостепи с энтомологических позиций // *Евразийский энтомолог. журн.* 2007. Т. 6. № 2. С. 123–128.
  16. Yeo H., Pell J.K., Alderson P.G., Clark S.J., Pye B.J. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species // *Pest Manag. Sci.* 2003. V. 59. № 2. P. 156–165.
  17. Fargues J., Bon M.C. Influence of temperature preferences of two *Paecilomyces fumosoroseus* lineages on their co-infection pattern // *J. Invertebr. Pathol.* 2004. V. 87. № 2–3. P. 94–104.
  18. De Cresy E., Jaronski S., Lyons B., Lyons T.J., Keyhani N.O. Directed evolution of a filamentous fungus for thermotolerance // *BMC Biotechnology*. 2009. V. 9. № 1. 74.
  19. Литвинов М.А. Методы изучения почвенных микроскопических грибов. Л.: Наука, 1969. 115 с.
  20. Estrada M.E., Camacho M., Benito V.C. The molecular diversity of different isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. as assessed using intermicrosatellites (ISSRs) // *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2007. V. 12. № 2. P. 240–252.
  21. 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*. 2010. V. 79. № 2. P. 265–269.
  22. Kryukov V.Yu., Yaroslavtseva O.N., Lednev G.R., Borisov B.A. Local epizootics caused by teleomorphic cordycipitoid fungi (*Ascomycota: Hypocreales*) in populations of forest lepidopterans and sawflies of the summer–autumn complex in Siberia // *Microbiology*. 2011. V. 80. № 2. P. 286–296.
  23. Bidochka M.J., Kamp A.M., Lavender M.T., Dekoning J., De Cross J.N.A. Habitat association in two genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*: uncovering cryptic species? // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. V. 67. № 3. P. 1335–1342.
  24. Rehner S.A., Buckley E.A. *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs // *Mycologia*. 2005. V. 97. № 1. P. 84–98.
  25. Крюков В.Ю., Леднев Г.Р., Дубовский И.М., Серебров В.В., Левченко М.В., Ходырев В.П., Сагитов А.О., Глунов В.В. Перспективы применения энтомопатогенных гифомицетов (*Deuteromycota, Hyphomycetes*) для регуляции численности насекомых // *Евразийский энтомолог. журн.* 2007. Т. 6. № 2. С. 195–204.
  26. Jaronski S.T., Goettel M.S., Lomer C.J. Regulatory requirements for ecotoxicological assessments of microbial insecticides – how relevant are they? // *Environmental impacts of microbial insecticides* / Eds. Hokkanen H.M.T., Hajek A.E. The Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. P. 237–260.
  27. Ouedraogo R.M., Goettel M.S., Brodeur J. Behavioral thermoregulation in the migratory locust: a therapy to overcome fungal infection // *Oecologia*. 2004. V. 138. № 2. P. 312–319.