



Научная статья

УДК 339.54.012+338.001.36

doi: 10.55186/25876740_2024_67_2_188

ВЫСОКОВИРУЛЕНТНЫЕ И СПЕЦИФИЧНЫЕ БИОПЕСТИЦИДЫ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

А.Г. Шухалова, С.А. Тимофеев, В.В. Долгих

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Использование энтомопатогенных грибов является перспективным направлением в биологической борьбе с насекомыми вредителями. Важными преимуществами этой методики является простота культивирования этих грибов, а также их безопасность для всех живых организмов кроме насекомых. Однако этот подход не лишен существенных недостатков, главным из которых являются относительно низкая вирулентность данных паразитов насекомых. Эта проблема может быть решена за счет генетической модификации используемых штаммов. В данном обзоре представлены актуальные данные о создании новых биопестицидов на основе таких штаммов и об их возможном применении в сельском хозяйстве. Основными методами трансформации энтомопатогенных грибов являются полиэтиленгликоль-опосредованная трансформация протопластов, трансформация с помощью агробактерий, электропорация пророщенных конидий и химическая трансформация бластоспор. В геном этих организмов встраивают последовательности, кодирующие различные эффекторные молекулы, способные негативно воздействовать на зараженных ими насекомых, например токсины из ядов хищных насекомых или паразитоидов. Недавно были созданы первые штаммы энтомопатогенных грибов, секретирующих в организм зараженных насекомых двуцепочечные РНК, способные подавлять экспрессию их жизненно важных белков. Повышение вирулентности данных штаммов происходит специфично к конкретному виду насекомого вредителя. Для эффективного применения подобных пестицидов важно обеспечить доставку энтомопатогенного гриба к вредителю. Основными способами является полив растений или почвы, опрыскивание, замачивание корней или семян, использование насекомых-переносчиков. Самым распространенным способом является полив растений. В то же время хотя при внесении в почву энтомопатогенные грибы заражают только насекомых, которые находятся в грунте, в этом случае они наиболее защищены от воздействия внешних условий. Против кровососущих насекомых, как клещи и комары, можно использовать опрыскивание скота и жилой площади.

Ключевые слова: биопестициды, энтомопатогенные грибы, генетическая модификация, *Metarrhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*

Благодарности: исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 23-26-00039.

Original article

HIGHLY VIRULENT AND SPECIFIC BIOPESTICIDES BASED ON GENETICALLY MODIFIED ENTOMOPATHOGENIC FUNGI

A.G. Shukhalova, S.A. Timofeev, V.V. Dolgikh

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

Abstract. The use of entomopathogenic fungi represents a promising avenue in biological pest control against insect pests. This method offers significant advantages, including the ease of cultivating these fungi and their safety to non-target organisms, apart from insects. Nevertheless, a notable drawback of this approach is the relatively low virulence of entomopathogenic fungi towards insect hosts. This challenge can be addressed through genetic modification of the fungal strains. This review provides up-to-date insights into the development of novel biopesticides based on genetically modified strains and their potential applications in agriculture. The main methods of transformation of entomopathogenic fungi are polyethylene glycol-mediated transformation of protoplasts, transformation using agrobacteria, electroporation of germinated conidia and chemical transformation of blastospores. Incorporation of sequences encoding various effector molecules into the genomes of these organisms is a key strategy, allowing these fungi to negatively impact their infected insect hosts. Recent advancements have led to the creation of strains that secrete double-stranded RNA (dsRNA), targeting essential insect proteins, thus enhancing their virulence. Importantly, the enhancement of virulence in these strains is specific to particular pest insect species. Effective delivery of entomopathogenic fungi to target pests is crucial for the successful application of such biopesticides. Common methods include plant or soil drenching, foliar spraying, root or seed soaking, and the use of insect vectors. Soil drenching, for instance, selectively targets soil-dwelling insects, providing protection against environmental factors. For blood-feeding insects like ticks and mosquitoes, livestock and residential area spraying can be employed. This comprehensive overview sheds light on the genetic strategies for augmenting the insecticidal potential of entomopathogenic fungi and underscores the significance of effective delivery mechanisms for their successful utilization in integrated pest management strategies.

Keywords: Biopesticides, entomopathogenic fungi, genetic modification, *Metarrhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*

Acknowledgments: The research was supported by the Russian Science Foundation, project No. 23-26-00039.

Введение. В сельском хозяйстве потери урожая без применения мер борьбы с вредителями и сорняками могут достигать от 48% до 83%. Активная защита урожая позволяет снизить эти потери вплоть до 27% [1]. Чаще всего для этого используют химические пестициды, которые, однако, могут оказывать негативное влияние на

здоровье человека и окружающую среду. Биологические методы защиты растений представляют собой безопасную и экологически чистую альтернативу. В этом случае для борьбы с вредителями используют их «естественных» врагов, например разнообразных патогенов, таких как бактерии, вирусы и грибы.

Среди энтомопатогенных грибов в защите растений чаще всего используют представителей трех родов анаморфных аскомицетов (*Hypocreales*: *Cordycipitaceae*): *Metarrhizium*, *Beauveria* и *Lecanicillium* [2]. Данные филаментные грибы относительно просты в культивировании и могут быть специфичны самым разным группам



насекомых-вредителей. Их инфекционная стадия — толстостенные и хорошо защищенные споры (конидии) сохраняют инвазионность в течение длительного времени. Еще одним важным преимуществом биоинсектицидов на их основе является то, что данные споры не должны обязательно попадать в пищеварительный тракт насекомого для заражения и способны прорастать сквозь его внешние покровы [3]. Главным недостатком использования энтомопатогенных грибов в качестве биоинсектицидов является их относительно низкая вирулентность, и, соответственно, не высокая скорость уничтожения насекомых-вредителей по сравнению с эффектом химических пестицидов [2]. Также данные патогены чувствительны к некоторым факторам окружающей среды, например к интенсивному ультрафиолетовому излучению. Основным методом, позволяющим повысить вирулентность и устойчивость энтомопатогенных грибов, является их генетическая модификация [3]. В данном обзоре представлены актуальные данные об используемых методах трансформации энтомопатогенных грибов, наиболее эффективных полученных штаммах, а также о методах их возможного использования против насекомых-вредителей.

Методы трансформации энтомопатогенных грибов. Основными методами внедрения чужеродных последовательностей в геном энтомопатогенных аскомицетов являются: а) Агробактериальная трансформация; б) полиэтиленгликоль (ПЭГ) опосредованная трансформация; в) электропорация пророщенных конидий; г) химическая трансформация бластоспор [3].

Самый часто используемый метод генетической модификации филаментных грибов — это трансформация с помощью агробактерий. Он основан на способности клубеньковой бактерии *Agrobacterium tumefaciens* переносить генетический материал из опухолеобразующей плазмиды (Ti plasmid) внутри своих клеток в клетки растений и грибов. Таким образом, для встраивания в геном энтомопатогенов определенной последовательности, ее клонируют в составе Ti плазмиды и трансформируют этой конструкцией бактерий. Последних, в свою очередь, инкубируют с конидиями, индуцируя перенос генетического материала условиями, имитирующими образование клубеньков [4].

Полиэтиленгликоль-опосредованная трансформация энтомопатогенных грибов заключается в формировании из их клеток протопластов за счет разрушения их клеточной стенки сложной степенью ферментов. Затем протопласты инкубируют с высококонцентрированным раствором плазмидной ДНК, содержащей встраиваемый ген, а также раствора ПЭГ, который обеспечивает поступление ДНК из раствора внутрь клеток грибов. Механизм, лежащий в основе этого процесса, пока не изучен, по одной из гипотез ПЭГ вызывает адгезию протопластов, что, как считается, облегчает поступление ДНК в клетки грибов [5].

При трансформации с помощью электропорации экзогенная ДНК попадает в клетку организма за счет формирования пор в его клеточной мембране при импульсном воздействии напряжения. Для филаментных грибов этот процесс затруднен наличием у них развитой клеточной стенки, при этом ее разращение ферментами, как в случае использования ПЭГ, не позволяет решить эту проблему, т.к. протопласты не выживают после воздействия электрического поля.

Эффективно применить этот метод оказалось возможно используя для трансформации пророщенные конидии грибов, клеточная стенка которых истончается на небольшом участке клетки, в котором формируется проросток [6]. Условно к трансформации с помощью электропорации можно отнести также опробованный для *B. Bassiana* метод электрослияния (electrofusion) конидий разных штаммов одного вида под воздействием градиентного напряжения, для создания гибридных линий, потенциально сочетающих в себе их положительные свойства [7].

Наиболее простым методом генетической модификации энтомопатогенных грибов является химическая трансформация ацетатом лития. В этом случае необходимо получить бластоспоры — стадию жизненного цикла патогенов, отвечающую за расселение по организму насекомого через гемолимфу и представляющую собой небольшие и тонкостенные одноклеточные споры. Трансформация осуществляется за счет добавления к клеткам раствора, содержащего ацетат лития, который воздействует на клеточную мембрану спор, увеличивая ее пористость, а также процедуры теплового шока [8]. На сегодняшний день этот метод опробован только для *B. Bassiana*.

Примеры создания штаммов энтомопатогенных грибов с повышенной вирулентностью.

Первый генетически модифицированный штамм энтомопатогенных грибов с повышенной вирулентностью был создан еще в конце прошлого века. Сент-Лежер и соавторы [9] описали успешную вставку дополнительной копии протеазы *M. anisopliae* в геном того же патогена.

Аналогично, для *B. bassiana* экспрессия экзогенной хитиназы привела к увеличению вирулентности против тлей, в то время как штамм, генетически модифицированный с протеазой *Metarhizium*, продемонстрировал значительное усиление патогенности гриба против чешуекрылых вредителей, таких как *Dendrolimus punctatus* и *Galleria mellonella* [10]. Введение токсина BmKit скорпиона *Buthus martensi* в *L. lecanii* привело к значительному увеличению вирулентности против тлей [11]. Недавно для модификации энтомопатогенных грибов впервые был использован токсин из яда ос наездников. Штамм *B. bassiana* был модифицирован для экспрессии и секреции иммуносупрессорного белка VRF1 из *Microplitis mediator*. Этот трансформант проявил повышенную вирулентность против хлопковой совки *Helicoverpa armigera* [12].

Недавно были получены первые данные о модификации энтомопатогенных грибов путем экспрессии не только белковых молекул, но и двухцепочечной РНК (dsRNA), подавляющей экспрессию определенных генов у насекомых-хозяев. Штаммы *L. attenuatum*, которые экспрессировали dsRNA к генам насекомых, кодирующим белки, участвующие в иммунных реакциях, проявили повышенную вирулентность в отношении цитрусовой белокрылки *Dialeurodes citri* [13].

Способы доставки энтомопатогенных грибов к вредителям.

Самым важным этапом в заражении вредных насекомых является успешная доставка биопестицида. Выбор правильного метода зависит от вида членистоногого, погодных условий и территории (рис. 1).

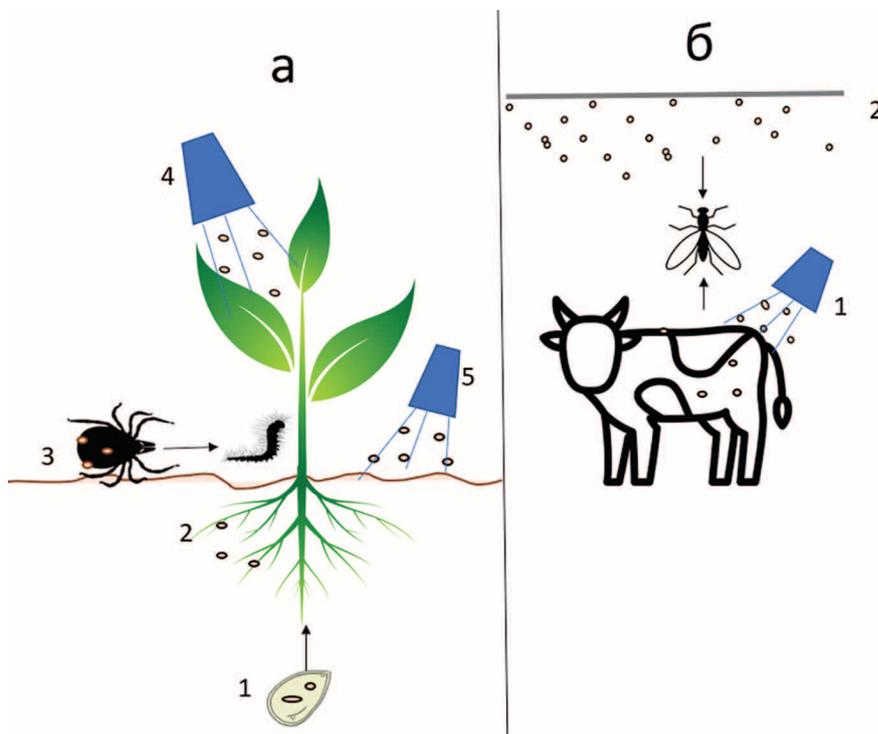


Рисунок 1. Схема методов доставки биопестицидов из энтомопатогенных грибов,

а — методы направленные на насекомых сельскохозяйственных вредителей (1 — замачивание семян, 2 — корневая инокуляция, 3 — использование посредников — клещей, 4 — опрыскивание растений, 5 — опрыскивание или орошение почвы);

б — методы направленные на кровососущих насекомых (1 — опрыскивание животных, 2 — опрыскивание стен)

Figure 1. Scheme of methods for delivering biopesticides from entomopathogenic fungi, a — methods aimed at insects of agricultural pests (1 — soaking seeds, 2 — root inoculation, 3 — using of ticks as carriers, 4 — spraying plants, 5 — spraying or irrigation of soil);

b — methods aimed at blood-sucking insects (1 — spraying animals, 2 — spraying walls)





В полевых условиях или максимально приближенных к ним часто прибегают к стандартному методу полива растения, которое подвергается воздействию вредного членистоногого. Было показано, что опрыскивание биопестицидами из энтомопатогенных грибов результативнее, чем другие методы доставки [14]. Грибные изоляты выращивают на питательном субстрате, например агаре или рисе, в течение 15 дней при 25°C до образования спороносящих конидий. Далее их соскабливают в чистый водный раствор, фильтруют и обрабатывали ультразвуком, определяя жизнеспособность конидий, которая должна быть больше 97%. В другом случае, после инокуляции, высушенный субстрат подвергается просеиванию. Опрыскивание небольшого количества растений может происходить вручную с помощью аэрографа, а сельскохозяйственные угодья обрабатываются с помощью сельскохозяйственных самолетов [15].

Еще одними популярными способами является инокуляция корневой зоны и семян. Известно, что некоторые виды эндофитных энтомопатогенных грибов систематически колонизируют растения и формируют симбиотические взаимоотношения, увеличивая их жизнеспособность [16]. Искусственно внесение энтомопатогенных грибов также позволяет достичь такого эффекта. Для инокуляции берут корни или клубни растения, опускают его в грибковые изоляты на несколько минут и пересаживают в индивидуальные горшки. Аналогично происходит замачивание семян. После прорастания их погружают в суспензию конидий, переносят в емкость с питательной средой и через 24 часа в емкости для проращивания во влажных условиях [17].

Некоторые насекомые находятся в почве большую часть своего жизненного цикла. Для биоконтроля таких насекомых разработан метод орошения почвы. Оно может осуществляться суспензией спор или водным раствором, содержащим конидии с нанесенными на них маслами. Наиболее эффективен этот способ на грунтовых поверхностях с травой, листьями или гравием [18]. Одним из методов биологической защиты растений является использование хищных клещей, поедающих фитофагов-вредителей. Эффект этой методики можно значительно увеличить, используя клещей в качестве "посредника" для транспортировки энтомопатогенных грибов в популяцию вредителей. Было показано, что простого нанесения конидий грибов на хищных клещей достаточно для значительного увеличения скорости сокращения популяции вредителя уже через 48 часов после начала эксперимента [18].

Для биологической защиты от кровососущих насекомых используют методы с опрыскиванием стен или сельскохозяйственных животных. Последний направлен на животных, которые уже подвержены действию вредителя. Животных опрыскивают суспензией спор энтомопатогенных грибов с помощью гидравлического распыления [19]. Опрыскивание стен направлено на борьбу с опасными кровососущими насекомыми человека, как малярийные комары. В экспериментах по опрыскиванию разных материалов было показано, что глиняные панели и хлопчатобумажная ткань подходят для эффективного заражения комаров лучше, чем полиэфирная сетка [20].

Выводы. Для создания высоковирулентных и специфичных биопестицидов на основе

генетически модифицированных энтомопатогенных грибов используется их генетическая модификация. Чаще всего для этого используют трансформацию с помощью агробактерий, самый трудоемкий, но универсальный и проработанный метод. Упрощенными методиками являются трансформация с помощью ПЭГ, ацетата лития и электропорация пророщенных конидий, которые, однако, опробованы не для всех видов патогенов, используемых в защите растений. На сегодняшний день уже созданы десятки штаммов грибов, демонстрирующие повышенную вирулентность к вредителям и эффективно экспрессирующие и секретирующие чужеродные молекулы, протеазы, хитиназы, токсины и т.д. Недавно были созданы первые наиболее специфичные энтомопатогены, способные секретировать двуцепочечные РНК, блокирующие экспрессию различных генов вредителей. Для доставки энтомопатогенных грибов чаще всего используют опрыскивание листьев и замачивание корней суспензией, содержащей конидии. Также удобна обработка почвы с помощью полива или орошения. Нахождение спор в земле уменьшает действие абиотических факторов среды, так как они не подвергаются воздействию солнечного света и перепадам температуры. Также этот метод можно использовать не только для насекомых, постоянно обитающих в земле, но и для членистоногого, попадающих на поверхность в какой-либо стадии развития. Однако для насекомых, обитающих на растениях, этот метод не эффективен, а присутствие других видов грибов может подавлять действие биопестицида. Специфичными методами является опрыскивание стен и животных, так как они подойдут только для кровососущих насекомых, таких как клещи и комары. А инокуляция семян и корней или использование переносчика — хищного клеща, используются редко, так как в этом случае нет возможности контролировать количество переносимых спор.

Список источников

1. Oerke E.C. & Dehne H.W. (2004). Safeguarding production — losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, vol. 23, no 4, pp. 275–285
2. Lovett B. & St Leger R.J. (2018) Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Manag Sci*. vol. 4, no 4, pp. 781–789. doi: 10.1002/ps.4734
3. Тимофеев С.А., В.С. Журавлев В.С., Долгих В.В. Трансформация энтомопатогенных грибов: методический обзор // Вестник защиты растений. 2019. № 100 С. 7–14.
4. Fang W., Zhang Y., Yang X., Zheng X., Duan H., Li Y. & Pei Y. (2004). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Beauveria bassiana* using an herbicide resistance gene as a selection marker. *J Invertebr Pathol*. vol. 85, no 1, pp. 18–24. doi: 10.1016/j.jip.2003.12.003.
5. Kuwano T., Shirataki C. & Itoh Y. (2008) Comparison between polyethylene glycol- and polyethylenimine-mediated transformation of *Aspergillus nidulans*. *Curr Genet*. vol. 54, no 2, pp. 95–103.
6. Jin K., Zhang Y., Luo Z., Xiao Y., Fan Y., Wu D. & Pei Y. (2008). An improved method for *Beauveria bassiana* transformation using phosphothricin acetyltransferase and green fluorescent protein fusion gene as a selectable and visible marker. *Biotechnol Lett*. vol. 30, no 8, pp. 1379–1383. doi: 10.1007/s10529-008-9713-6
7. Davari A., Skinner M. & Parker B. (2018). Cell electroporation to improve efficacy and thermotolerance of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Journal*

of Applied Microbiology. vol. 125, no 5, pp. 1482–1493. doi: 10.1111/jam.14031

8. Ying S.H. & Feng M.G. (2006) Medium components and culture conditions affect the thermotolerance of aerial conidia of fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana*. *Let Appl Microbiol*. vol. 43, pp. 331–335. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01947.x

9. St Leger R.J., Joshi L., Bidochka M.J. & Roberts D.W. (1996). Construction of an improved mycoinsecticide over-expressing a toxic protease. *Proc Natl Acad Sci USA*. vol. 93, pp. 6349–6354. doi: 10.1073/pnas.93.13.6349

10. Lu D., Pava-Ripoll M., Li Z. & Wang C. (2008). Insecticidal evaluation of *Beauveria bassiana* engineered to express a scorpion neurotoxin and a cuticle degrading protease. *Appl Microbiol Biotechnol*. vol. 81, no 3, pp. 515–522. doi: 10.1007/s00253-008-1695-8

11. Ming X., Yan J.Z., Xiao M.Z., Jin J.Z., De Liang P. & Gang W. 2015. Expression of a scorpion toxin gene BmKit enhances the virulence of *Lecanicillium lecanii* against aphids. *J Pest Sci*. vol. 88, pp. 637–644.

12. Zeng S., Lin Z., Yu X., Zhang J. & Zou Z. (2023) Expressing Parasitoid Venom Protein VRF1 in an Entomopathogen *Beauveria bassiana* Enhances Virulence toward Cotton Bollworm *Helicoverpa armigera*. *Appl Environ Microbiol*. vol. 89, no 6, pp. e0070523. doi: 10.1128/aem.00705-23

13. Yu H., Meng J., Xu J., Liu T. & Wang D. (2015). A Novel Neurotoxin Gene ar1b Recombination Enhances the Efficiency of *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus as a Pesticide by Inhibiting the Host Larvae Ability to Feed and Grow. *PLoS ONE*. vol. 10, no 8, pp. e0135279. doi: 10.1371/journal.pone.0135279

14. González-Mas N., Sánchez-Ortiz A., Valverde-García P. & Quesada-Moraga E. (2019). Effects of Endophytic Entomopathogenic Ascomycetes on the Life-History Traits of *Aphis gossypii* Glover and Its Interactions with Melon Plants. *Insects*. vol. 10, no 6, pp. 165. doi: 10.3390/insects10060165

15. Ramos Aguila L.C., Sánchez Moreano J.P., Akutse K.S., Bamisile B.S., Liu J., Haider F.U., Ashraf H.J. & Wang L. (2023). Comprehensive genome-wide identification and expression profiling of ADF gene family in *Citrus sinensis*, induced by endophytic colonization of *Beauveria bassiana*. *Int J Biol Macromol*. vol. 225, pp. 886–898. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.11.153

16. Wilcken C.F., Dal Pogetto M.H. F.D.A., Lima A.C. V., Soliman E.P., Fernandes B.V., da Silva I.M., Zanuncio A.J. V., Barbosa L.R. & Zanuncio J.C. (2019) Chemical vs entomopathogenic control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) via aerial application in eucalyptus plantations. *Sci Rep*. vol. 9, no 1, pp. 416. doi: 10.1038/s41598-019-45802-y

17. Barra-Bucarei L., France Iglesias A., Gerding González M., Silva Aguayo G., Carrasco-Fernández J., Castro J.F. & Ortiz Campos J. (2019). Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. *Microorganisms*. vol. 8, no 1, pp. 65. doi: 10.3390/microorganisms8010065.

18. Lin G., Guertin C., Di Paolo S.A., Todorova S. & Brodeur J. (2019). Phytoseiid predatory mites can disperse entomopathogenic fungi to prey patches. *Sci Rep*. vol. 9, no 1, pp. 19435. doi: 10.1038/s41598-019-55499-8.

19. Rodriguez-Vivas R.I., Jonsson N.N. & Bhushan C. (2018). Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology Research*, vol. 117, pp. 3–29. doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6

20. Mnyone L.L., Kirby M.J., Lwetoijera D.W., Mpingwa M.W., Simfukwe E.T., Knols B.G., Takken W. & Russell T.L. (2010). Tools for delivering entomopathogenic fungi to malaria mosquitoes: effects of delivery surfaces on fungal efficacy and persistence. *Malar J*. vol. 9, pp. 246. doi: 10.1186/1475-2875-9-246.



References

1. Oerke E.C. & Dehne H.W. (2004). Safeguarding production — losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, vol. 23, no 4, pp. 275–285

2. Lovett B. & St Leger R.J. (2018) Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Manag Sci*. vol. 4, no 4, pp. 781–789. doi: 10.1002/ps.4734

3. Timofeev S., Zhuravlev V., & Dolgikh V. (2019). Transformation of entomopathogenic fungi: a methodological review. *Plant Protection News*, vol. 100, no 2, pp. 7–14 doi: 10.31993/2308-6459-2019-2(100)-7-14

4. Fang W., Zhang Y., Yang X., Zheng X., Duan H., Li Y. & Pei Y. (2004). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Beauveria bassiana* using an herbicide resistance gene as a selection marker. *J Invertebr Pathol*. vol. 85, no 1, pp. 18–24. doi: 10.1016/j.jip.2003.12.003.

5. Kuwano T., Shirataki C. & Itoh Y. (2008) Comparison between polyethylene glycol- and polyethylenimine-mediated transformation of *Aspergillus nidulans*. *Curr Genet*. vol. 54, no 2, pp. 95–103.

6. Jin K., Zhang Y., Luo Z., Xiao Y., Fan Y., Wu D. & Pei Y. (2008). An improved method for *Beauveria bassiana* transformation using phosphinothricin acetyltransferase and green fluorescent protein fusion gene as a selectable and visible marker. *Biotechnol Lett*. vol. 30, no 8, pp. 1379–1383. doi: 10.1007/s10529-008-9713-6

7. Davari A., Skinner M. & Parker B. (2018). Cell electrofusion to improve efficacy and thermotolerance of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Journal of Applied Microbiology*. vol. 125, no 5, pp. 1482–1493. doi: 10.1111/jam.14031

8. Ying S.H. & Feng M.G. (2006) Medium components and culture conditions affect the thermotolerance of aerial conidia of fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana*. *Let*

Appl Microbiol. vol. 43, pp. 331–335. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01947.x

9. St Leger R.J., Joshi L., Bidochka M.J. & Roberts D.W. (1996). Construction of an improved mycoinsecticide over-expressing a toxic protease. *Proc Natl Acad Sci USA*. vol. 93, pp. 6349–6354. doi: 10.1073/pnas.93.13.6349

10. Lu D., Pava-Ripoll M., Li Z. & Wang C. (2008). Insecticidal evaluation of *Beauveria bassiana* engineered to express a scorpion neurotoxin and a cuticle degrading protease. *Appl Microbiol Biotechnol*. vol. 81, no 3, pp. 515–522. doi: 10.1007/s00253-008-1695-8

11. Ming X., Yan J.Z., Xiao M.Z., Jin J.Z., De Liang P. & Gang W. 2015. Expression of a scorpion toxin gene BmKit enhances the virulence of *Lecanicillium lecanii* against aphids. *J Pest Sci*. vol. 88, pp. 637–644.

12. Zeng S., Lin Z., Yu X., Zhang J. & Zou Z. (2023) Expressing Parasitoid Venom Protein VRF1 in an Entomopathogen *Beauveria bassiana* Enhances Virulence toward Cotton Bollworm *Helicoverpa armigera*. *Appl Environ Microbiol*. vol. 89, no 6, pp. e0070523. doi: 10.1128/aem.00705-23

13. Yu H., Meng J., Xu J., Liu T. & Wang D. (2015). A Novel Neurotoxin Gene ar1b Recombination Enhances the Efficiency of *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus as a Pesticide by Inhibiting the Host Larvae Ability to Feed and Grow. *PLoS ONE*. vol. 10, no 8, pp. e0135279. doi: 10.1371/journal.pone.0135279

14. González-Mas N., Sánchez-Ortiz A., Valverde-García P. & Quesada-Moraga E. (2019). Effects of Endophytic Entomopathogenic Ascomycetes on the Life-History Traits of *Aphis gossypii* Glover and Its Interactions with Melon Plants. *Insects*. vol. 10, no 6, pp. 165. doi: 10.3390/insects1006165

15. Ramos Aguila L.C., Sánchez Moreano J.P., Akutse K.S., Bamisile B.S., Liu J., Haider F.U., Ashraf H.J. & Wang L.

(2023). Comprehensive genome-wide identification and expression profiling of ADF gene family in *Citrus sinensis*, induced by endophytic colonization of *Beauveria bassiana*. *Int J Biol Macromol*. vol. 225, pp. 886–898. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.11.153

16. Wilcken C.F., Dal Pogetto M.H. F.D.A., Lima A.C. V., Soliman E.P., Fernandes B.V., da Silva I.M., Zanuncio A.J. V., Barbosa L.R. & Zanuncio J.C. (2019) Chemical vs entomopathogenic control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) via aerial application in eucalyptus plantations. *Sci Rep*. vol. 9, no 1, pp. 416. doi: 10.1038/s41598-019-45802-y

17. Barra-Bucareí L., France Iglesias A., Gerding González M., Silva Aguayo G., Carrasco-Fernández J., Castro J.F. & Ortiz Campos J. (2019). Antifungal Activity of *Beauveria bassiana* Endophyte against *Botrytis cinerea* in Two Solanaceae Crops. *Microorganisms*. vol. 8, no 1, pp. 65. doi: 10.3390/microorganisms8010065.

18. Lin G., Guertin C., Di Paolo S.A., Todorova S. & Brodeur J. (2019). Phytoseiid predatory mites can disperse entomopathogenic fungi to prey patches. *Sci Rep*. vol. 9, no 1, pp. 19435. doi: 10.1038/s41598-019-55499-8.

19. Rodríguez-Vivas R.I., Jonsson N.N. & Bhushan C. (2018). Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology Research*, vol. 117, pp. 3–29. doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6

20. Mnyone L.L., Kirby M.J., Lwetojira D.W., Mpingwa M.W., Simfukwe E.T., Knols B.G., Takken W. & Russell T.L. (2010). Tools for delivering entomopathogenic fungi to malaria mosquitoes: effects of delivery surfaces on fungal efficacy and persistence. *Malar J*. vol. 9, pp. 246. doi: 10.1186/1475-2875-9-246.

Информация об авторах:

Шухалова Анастасия Геннадиевна, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной защиты растений, nastyadzh@mail.ru
Тимофеев Сергей Александрович, научный сотрудник лаборатории молекулярной защиты растений, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6664-3971>, Scopus ID: 55623376600, ts-bio@ya.ru
Долгих Вячеслав Васильевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной защиты растений, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2362-2633>, Scopus ID: 26323171300, dol1slav@yahoo.com

Information about the authors:

Anastasia G. Shukhalova, research assistant in laboratory of molecular plant protection, nastyadzh@mail.ru
Sergey A. Timofeev, researcher in laboratory of molecular plant protection, All-Russian Institute of Plant Protection, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6664-3971>, Scopus ID: 55623376600, ts-bio@ya.ru
Viacheslav V. Dolgikh, leading researcher, head of laboratory of molecular plant protection, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2362-2633>, Scopus ID: 26323171300, dol1slav@yahoo.com

✉ nastyadzh@mail.ru

