

БИОРАЗНООБРАЗИЕ,
СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 630.416.5 : 632.937.14 : 579.26

ГРИБЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С КОРОЕДОМ-ТИПОГРАФОМ
(*IPS TYROGRAPHUS*) В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2019 г. Г. Р. Леднев¹, М. В. Левченко¹, И. А. Казарцев^{1,2,*}

¹ Всероссийский НИИ защиты растений, 196608 Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет, 194021 Санкт-Петербург, Россия

* E-mail: kazartsev@inbox.ru

Поступила в редакцию 14.05.2018 г.

После доработки 20.05.2018 г.

Принята к публикации 29.05.2018 г.

Для оценки таксономического состава микобиоты короёда-типографа в мае 2017 г. был произведен отлов имаго вредителя с помощью феромонных ловушек барьерного типа на восьми участках Ленинградской обл. Во всех обследованных локациях популяции короёда находились в состоянии депрессии. Исследование поверхностной микобиоты жука проводили путем посева на питательные среды пропагул грибов, полученных смывом с кутикулы насекомых. Внутреннюю микобиоту выделяли на среды из гомогенатов трупов, прошедших предварительную поверхностную стерилизацию. Идентификацию грибов проводили с помощью световой микроскопии и путем секвенирования рДНК. Доля колоний дрожжевых грибов, ассоциированных с имаго короёда во всех локациях была значительно выше в сравнении с мицелиальными грибами. Плотность дрожжевых пропагул на поверхности кутикулы короёда была существенно выше в сравнении с полостью его тела. С мицелиальными грибами наблюдалась обратная картина — количество КОЕ на экзоскелете было гораздо меньше в сравнении с внутренними пробами. Мицелиальные грибы были представлены 13 родами, представителями которых можно условно соотнести с четырьмя экологическими группами: ксилотрофы (*Bjerkandera*, *Fomitopsis*, *Irpex* и *Polyporus*), энтомопатогены (*Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium*), деревоокрашивающие грибы (*Ophiostoma*, *Grosmannia*) и неспециализированные сапротрофы (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* и представители отдела *Zygomycota*). Базидиальные ксилотрофные грибы обнаружены только в полости тела имаго короёда, что свидетельствует о достаточно тесной их взаимосвязи. Энтомопатогенные грибы в незначительном количестве присутствуют почти во всех локациях, тем самым обеспечивается их вертикальный перенос в популяциях короёда. Среди офиостомовых грибов доминировали слабопатогенные или сапротрофные виды, развивающиеся в уже заселенных короёдом деревьях. Неспецифичные сапротрофы достаточно широко ассоциированы с короёдом-типографом, однако эта связь носит случайный характер.

Ключевые слова: короёд-типограф, ксилотрофные грибы, офиостомовые грибы, энтомопатогенные грибы

DOI: 10.1134/S0026364819020065

Среди насекомых-ксилофагов хвойных лесов многих регионов Евразии особое место занимает короёд-типограф или большой еловый короёд (*Ips tyrographus* L.). Являясь одним из наиболее опасных видов, он представляет большое экономическое и экологическое значение. Он заселяет преимущественно ослабленные или ветровальные деревья, но в периоды вспышек массового размножения способен в большом количестве уничтожать и здоровые стволы (Sallé et al., 2005; Müller et al., 2008; Maslov, 2010). Короёд-типограф является одним из главных движущих факторов сукцессии древесной растительности, и, следовательно, важным компонентом лесных экосистем в целом. Но чаще он воспринимается как вредитель, т.к. вспышки его массового размножения приводят к значи-

тельным потерям в лесохозяйственной отрасли во всех регионах Европы (Solheim, 1992; Viiri, Lieutier, 2004; Sallé et al., 2005; Faccoli, Stergulc, 2004; Kirisits, 2010). Так, в России только в последние несколько лет в Московской и Ленинградской обл. в период вспышки массового размножения короёдов погибли тысячи гектаров хвойных лесов (Malakhova, 2015; Selikhovkin et al., 2017).

Хорошо известно, что короёды вовлечены в мутуалистические взаимоотношения с фитопатогенными и прежде всего офиостомовыми грибами (семейство *Ophiostomataceae*). Преимущество для короёдов заключается в том, что они улучшают свой обедненный (с точки зрения азотсодержащих питательных веществ) рацион за счет питания грибами, в то время как микромицеты полу-

чают возможность расселения и заражения новых деревьев с помощью короледа (Hofstetter et al., 2015). Этот симбиоз остается до конца не изученным, и не совсем ясно насколько зависят партнеры друг от друга. Короледа-типограф, в отличие от многих других короедов, не обладает микангиями — специализированными приспособлениями для переноса спор грибов. В данном случае споры переносятся на элементах экзоскелета (передне-спинка и надкрылья), а также в пищеварительном тракте (Viiri, Lieutier, 2004).

Помимо формирования тесных взаимоотношений с грибами-мутуалистами короледа являются мишенью для грибов-паразитов. Прежде всего, это анаморфные аскомицеты из родов *Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium*, *Metarhizium* и др., которые в определенной степени могут выступать в качестве естественного регулятора численности данной группы вредителей (Kerchev et al., 2016; Wegensteiner et al., 1996, 2015; Takov et al., 2007). Обычно в популяциях короедов они встречаются спорадически, но иногда наблюдаются локальные эпизоотические очаги.

Кроме офиостомовых и энтомопатогенных грибов есть довольно много сообщений о представителях других таксонов, ассоциированных с *Ips typographus*. Это представители таких отделов как *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*, включая анаморфные роды и дрожжи (Kirisits, 2004; Persson et al., 2009; Giordano et al., 2013; Linnakoski et al., 2016). Однако при этом мало известно о разнообразии и функциональной роли микобиоты других трофических групп грибов, присутствующих на короледах.

Большинство работ по изучению микобиоты, ассоциированной с насекомыми-вредителями хвойных пород выполнено преимущественно с использованием стандартных микробиологических методов выделения грибов на питательные среды (Pashenova et al., 1995; Pashenova et al., 2012; Six, Wingfield, 2010). В некоторых случаях, когда таксономическое определение затруднено из-за отсутствия у грибов характерных морфологических признаков, ученые прибегают к секвенированию таксономически репрезентативных локусов генома (Linnakoski et al., 2016). Для этого традиционно используется секвенирование методом обрыва цепи (или секвенирование по Сэнгеру). В Италии для изучения короледа-типографа использовали молекулярный метод клонирования ITS региона. Была получена 31 грибная операционная таксономическая единица (ОТЕ), что по современным меркам может считаться довольно скудным объемом данных (Giordano et al., 2013). В настоящее время ДНК-метабаркодирование получает широкое распространение как эффективный инструмент при исследовании скрытого микробного биоразнообразия. В том числе появились подобные работы и по изучению микобиоты, ассоции-

рованной с различными вредителями древесных пород, например, *Tomicus piniperda*, *Hylastes ater*, *Trypodendron lineatum*, *Xyleborus affinis*, *Xyleborus ferrugineus* и *Xylosandrus crassiusculus* (Kostovčik et al., 2015; Miller et al., 2016).

Целью настоящего исследования являлась оценка таксономического и функционального состава грибов, ассоциированных с имаго короледа-типографа в фазе его активного лета в Ленинградской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения микобиоты короледа-типографа, в 2017 г. были установлены ловушки барьерного типа на восьми удаленных друг от друга участках Ленинградской области (табл. 1). Отлов насекомых в период массового лета проводился ловушками “Барьер 500” производства ВНИИХСЗР с диспенсером, пропитанным специфичным для короледа-типографа феромоном. Ловушки устанавливались по три на локацию при достижении дневной температуры воздуха 18°C с 17.05.17 по 27.05.17. Для того чтобы снизить количество растительных остатков (веток, листьев и пр.), обильно заполняющих сборные стаканы ловушек, а также защитить выловленных насекомых от влаги при возможных осадках, над ловушками были установлены квадратные экраны из экструдированного пенополистерола (50 × 50 см). Короледа из каждой ловушки пересыпались в индивидуальные стерильные полипропиленовые емкости.

Среднюю пробу из каждой локации, содержащую по 50 имаго отбирали в ламинаре стерильной препаративной иглой. В каждую пробу добавляли 5 мл стерильной воды и инкубировали при регулярном интенсивном встряхивании 15 минут. Затем 0.5 мл готовой суспензии, содержащей споры микроорганизмов с экзоскелета насекомых, переносили в пробирки (Falcon) и доводили до объема 50 мл. Часть жидкости объемом 200 мкл переносили в чашки Петри с агаризованной питательной средой (солодовый агар; среда Сабуро) и равномерно растирали по всей поверхности шпателем Дригальского.

Далее насекомых промывали в 5 мл раствора, содержащего 2% гипохлорита натрия (NaOCl) и 0.1% натрия додецилсульфата (SDS), а затем два раза деионизированной водой (diH₂O) по 10 мл, каждый раз активно встряхивая в течение 2 мин и сливая без остатка промывочный раствор. Трупы насекомых гомогенизировали с помощью стерильных одноразовых пестиков. В гомогенат добавляли 5 мл дистиллированной воды, перемешивали на вортексе до получения однородной суспензии, а затем 0.5 мл переносили в пробирки (Falcon) и доводили до объема 50 мл. После этого 200 мкл, по аналогии с поверхностными смывами, переносили на среду и тщательно растирали. Во

Таблица 1. Результаты отлова имаго короледа-типографа в различных районах Ленинградской обл.

Местообитание	Координаты		Количество жуков, экз.	
	Широта	Долгота	Сумма	Среднее/ловушка
“Выборг” Выборгский р-н	60°51'17.46"С	28°53'59.71"В	2037	679.00 ± 226.93
“Колчаново” Волховский р-н	60°40'46.36"С	32°49'18.93"В	632	210.67 ± 120.69
“Сосново” Приозерский р-н	60°27'45.06"С	30°11'32.89"В	2259	753.00 ± 166.66
“Гостилицы” Ломоносовский р-н	59°48'38.17"С	29°33'21.23"В	2036	678.67 ± 102.77
“Тихвин” Тихвинский р-н	59°38'39.69"С	33°12'7.21"В	688	229.33 ± 21.84
“Гатчина” Гатчинский р-н	59°37'55.21"С	29°59'8.00"В	2643	881.00 ± 100.03
“Кобралово” Гатчинский р-н	59°34'5.53"С	30°21'44.09"В	476	158.67 ± 85.58
“Луга” Лужский р-н	58°38'2.61"С	29°50'53.07"В	1749	583.00 ± 141.21

всех вариантах эксперимента повторность была пятикратной.

Во всех чашках Петри (с поверхностными смывами и гомогенатами трупов жуков) подсчитывалось общее количество колоний дрожжевых и мицелиальных форм грибов, а также суммарное количество колоний мицелиальных грибов с идентичными культурально-морфологическими признаками.

Для таксономической идентификации из группы мицелиальных грибов с идентичными признаками выбирали по 2–3 колонии и выделяли в чистую культуру. Впоследствии при пересеве полученных культур использовался только солодовый агар, т.к. все выделенные грибы развивались на нем одинаково хорошо.

Идентификацию проводили с помощью световой микроскопии, а также путем секвенирования рДНК. Для амплификации рДНК, включающей фрагмент гена 18S рРНК, внутренний транскрибируемый спейсер 1 (ITS 1), ген 5.8S рРНК, внутренний транскрибируемый спейсер 2 (ITS 2) и фрагмент гена 28S рРНК, использованы праймеры ITS1 и ITS4 (White et al., 1990). Продукты амплификации разделяли электрофоретически в 1%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Результаты электрофореза визуализировали на трансиллюминаторе, а затем ампликоны нужной длины экстрагировали с использованием порошка оксида кремния (Malferrari et al., 2002). Секвенирующую ПЦП проводили по классическому методу обрыва цепи с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, США). Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500. Полученные нуклеотидные последовательности редактировали в программах SeqScape и VectorNTI и сравнивали с задепонированными в Генбанке (GenBank) с помощью алгоритма BLASTn.

Статистическая обработка проводилась методом однофакторного дисперсионного анализа

(one-way Anova), оценка существенности различий между средними арифметическими определялась по t-критерию Стьюдента в программе Statistica 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В восьми указанных локациях было суммарно отловлено более 12 000 особей короледа. Максимальная численность вредителя наблюдалась в окрестностях г. Гатчина (881 особь на ловушку за 6 дней), минимальная – в районе п. Кобралово (159 экзemplяров) (табл. 1). В отобранных образцах особи других видов жуков из п/семейства Scolytinae встречались в незначительном количестве в качестве примеси и их количество не превышало 1%.

В результате высева грибов было суммарно получено 23 048 колоний. При этом количество колоний дрожжей как в поверхностных смывах, так и в гомогенатах всегда превышало количество колоний, формирующих четко выраженный мицелий (табл. 2). В поверхностных смывах соотношение мицелиальных колоний к дрожжам (мицелий/дрожжи) варьировало от 1 : 15 (“Колчаново”) до 1 : 468 (“Гатчина”). Для проб гомогенизированных жуков это соотношение было существенно ниже и изменялось в пределах от 1 : 2 (“Кобралово”) до 1 : 22 (“Выборг”). Полученные сведения наглядно демонстрируют, что доля пропагул дрожжей в составе микобиоты, ассоциированной с короелем-типографом, всегда превышала долю филаментных грибов. При этом количество дрожжей было существенно выше на поверхности экзоскелета, чем в полости тела ($p < 0.001$) (рисунок 1). С филаментными грибами наблюдается противоположная картина, число колониеобразующих единиц (КОЕ) из поверхностных смывов существенно ниже в сравнении с внутренними пробами ($p < 0.001$).

В настоящей работе внимание было акцентировано прежде всего на изучении грибов, формирующих на питательной среде четко выраженный мицелий. Общее число проанализированных ко-

Таблица 2. Обилие дрожжевых и мицелиальных форм, выявленных из поверхностных смывов и гомогенатов имаго короледа-типографа

Локалитет	Поверхностная микобиота			Внутренняя микобиота		
	Среднее КОЕ /чашка		Соотношение “мицелиальные грибы/дрожжи”	Среднее КОЕ /чашка		Соотношение “мицелиальные грибы/дрожжи”
	дрожжи	мицелиальные грибы		дрожжи	мицелиальные грибы	
“Выборг”	70.6 ± 3.7	2.4 ± 0.7	1 : 29.4	93.8 ± 3.1	4.2 ± 0.6	1 : 22.3
“Гатчина”	1124.0 ± 105.4	2.4 ± 0.9	1 : 468.3	126.6 ± 7.2	32.0 ± 2.6	1 : 4.0
“Гостилицы”	923.2 ± 54.1	3.4 ± 1.0	1 : 271.5	111.20 ± 8.1	8.0 ± 0.7	1 : 13.9
“Кобралово”	275.0 ± 13.7	2.2 ± 0.4	1 : 125.0	81.8 ± 5.7	36.8 ± 10.1	1 : 2.2
“Колчаново”	159.0 ± 13.5	10.6 ± 1.3	1 : 15.0	77.2 ± 4.4	29.0 ± 4.1	1 : 2.7
“Луга”	372.6 ± 40.8	4.0 ± 1.2	1 : 93.2	72.4 ± 17.6	14.2 ± 2.1	1 : 5.1
“Сосново”	338.4 ± 15.4	2.4 ± 0.7	1 : 141.0	97.2 ± 6.1	8.6 ± 1.6	1 : 11.3
“Тихвин”	446.0 ± 37.6	4.0 ± 1.5	1 : 111.5	61.0 ± 3.2	15.40 ± 1.1	1 : 4.0

лоний филаментных грибов составило 898. Доля неидентифицированных грибов не превышала 6%.

Было выявлено, что микобиота, ассоциированная с короедом-типографом может быть разделена на следующие экологические группы: ксилотрофы, энтомопатогены, деревоокрашивающие грибы (представители семейства *Ophiostomataceae*) и неспециализированные сапротрофы.

Ксилотрофные грибы были обнаружены в жуках только из трех местонахождений (“Выборг”, “Тихвин” и “Луга”) и их доля от общего количества исследованных колоний составила 9% (табл. 3). При этом они высевались исключительно из полости тела насекомых. Были обнаружены тривиальные виды ксилотрофных грибов *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst., *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., *Irpex lacteus* (Fr.) Fr., *Polyporus* sp.

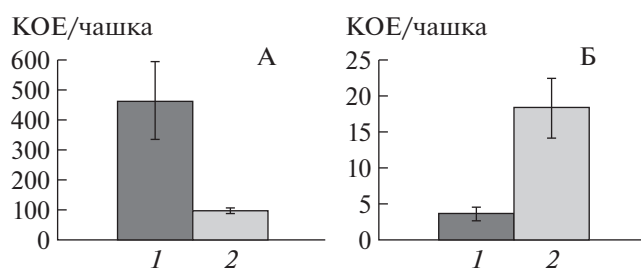


Рис. 1. Соотношение дрожжевых и мицелиальных грибов, выявленных на поверхности и внутри имаго короледа-типографа. А – дрожжеподобные грибы, Б – мицелиальные грибы; 1 – поверхностная микобиота, 2 – внутренняя микобиота. Вертикальные линии – ошибка среднего арифметического.

Энтомопатогенные грибы были выделены из насекомых, собранных в пяти из восьми локаций (“Выборг”, “Колчаново”, “Тихвин”, “Кобралово” и “Луга”). Они были представлены родами *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Isaria*. Встречаемость этой немногочисленной группы на поверхности и внутри жуков практически совпала и составила соответственно 2.5 и 2.2%.

Семейство *Ophiostomataceae* было представлено *Ophiostoma bicolor* Davidson et Wells, *Ophiostoma clavatum*-complex, *Grosmannia penicillata* (Gros-mann) Goid. и прочими неидентифицированными *Ophiostomataceae* (работы по идентификации продолжаются). Данная группа обнаружена во всех местонахождениях и превалировала над всеми остальными выявленными таксонами грибов как в поверхностных смывах, так и в полости тела жуков. При этом удельный вес грибов данной группы был существенно выше во внутренней микобиоте короледа в сравнении с наружной 81 и 66% соответственно.

Сапротрофы с широкой субстратной специализацией к которым мы отнесли грибы из родов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* и представители отдела *Zygomycota* высевались из жуков практически из всех локаций. Эта группа в значительно большем количестве (26%) встречалась на поверхности экзоскелета и почти не регистрировалась в полости тела (2.2%).

В целом при пересчете количества пропагул филаментных грибов, приходящихся на одного жука, получилось, что их плотность на поверхности кутикулы составила 7.8×10^3 , а в полости тела – 3.7×10^4 , а общее количество КОЕ, изолирован-

Таблица 3. Количественная характеристика и функциональный состав грибов, выделенных из имаго короеда-типографа

Функциональные группы	Встречаемость			
	Поверхностная микобиота		Внутренняя микобиота	
	КОЕ	доля, %	КОЕ	доля, %
Ксилотрофы, КОЕ/мл	0	0	3.4×10^4	9.2
Энтомопатогены, КОЕ/мл	2.0×10^3	2.6	8.0×10^3	2.2
Деревоокрашивающие, КОЕ/мл	5.2×10^4	66.2	3.0×10^5	81.4
Сапротрофы, КОЕ/мл	2.0×10^4	25.5	2.0×10^3	0.5
Прочие грибы, КОЕ/мл	4.5×10^3	5.7	2.5×10^4	6.7
Всего мицелиальных грибов, КОЕ/мл	7.8×10^4	100	3.7×10^5	100
Всего дрожжей, КОЕ/мл		9.3×10^6		1.8×10^6
КОЕ мицелиальных грибов /жук		7.8×10^3		3.7×10^4
КОЕ дрожжей/жук		9.3×10^5		1.8×10^5
Сумма КОЕ/жук		9.4×10^5		2.2×10^5

ных с одной особи короеда с учетом дрожжей – 9.4×10^5 и 2.2×10^5 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех обследованных местообитаниях численность имаго короеда-типографа была невысокой и не превышала 881 особи на одну ловушку за шесть дней, что свидетельствует о низкой угрозе возникновения очагов его массового размножения (Maslov, 2006). С 2016 г., после активной вспышки массового размножения этого вредителя, наблюдается резкое снижение его численности (до 500 жуков родительского поколения на 1 га) (Selikhovkin et al., 2017). Следовательно, оценка микобиоты, ассоциированной с короедом-типографом проводилась на его популяциях, находящейся в состоянии депрессии.

В результате исследования поверхностной и внутренней микобиоты было выделено 23 048 колоний и показано, что доля КОЕ дрожжей всегда превалировала над мицелиальными грибами. При этом количество дрожжей было существенно выше на поверхности экзоскелета, чем в полости тела.

Литературные данные указывают на достаточно тесные связи между некоторыми видами дрожжей и короедами. Так с короедом-типографом ассоциированы, например, *Kuraishia capsulata*, *Nakazawaea holstii* (Ascomycota) и виды из родов *Cryptococcus* и *Ogataea* (Basidiomycota) (Leufvén, Nethls, 1986). Хотя в некоторых работах сообщается о том, что в *Ips typographus* дрожжи в незначительном количестве были обнаружены только молекулярными методами и не высевались на питатель-

ные среды (Giordano et al., 2013). Дрожжи часто изолируются из эпителия средней кишки или гемолимфы жуков из родов *Ips* и *Dendroctonus*. Зафиксирована высокая частота выделения дрожжей с кутикулы как из микангиев (80%), так и с экзоскелета (91%) (Six, 2003). Роль дрожжей в жизненном цикле короедов пока не ясна, но предполагается, что они могут играть важную экологическую и физиологическую роль. Существуют экспериментальные данные о том, что некоторые дрожжи, обитающие в пищеварительном тракте насекомых, могут быть вовлечены в процессы пищеварения, детоксикации и синтеза феромонов (Vega, Dowd, 2005; Rivera et al., 2007). При этом остается открытым вопрос, почему плотность дрожжевых клеток на поверхности кутикулы короеда была существенно выше в сравнении с полостью его тела. Вероятно, это связано с тем, что в лесной подстилке, под опадом, типичных местах зимовки короедов, наблюдается высокая плотность дрожжеподобных грибов.

С мицелиальными грибами наблюдалась обратная ситуация, число их пропагул из поверхностных смывов было существенно ниже в сравнении с внутренними пробами. Руководствуясь той же логикой, численность мицелиальных грибов в поверхностной микобиоте, прежде всего за счет неспецифических сапротрофов, должна быть значительно выше по сравнению с полостью тела жука. Тем не менее, здесь наблюдается обратная картина, вероятно обусловленная значительной плотностью мутуалистически связанных офиостомовых грибов во внутренней микобиоте короеда.

Таксономический состав мицелиальных грибов изолированных из имаго короёда-типографа, представлен 13 родами, представителей которых можно условно соотнести с четырьмя экологическими группами: ксилотрофы, энтомопатогены, деревоокрашивающие грибы (представители семейства *Ophiostomataceae*) и неспециализированные сапротрофы.

Ксилотрофные грибы были представлены четырьмя тривиальными видами – *Bjerkandera adusta*, *Fomitopsis pinicola*, *Irpex lacteus* и *Polyporus* sp. и обнаружены в жуках только из трех местонахождений, их доля от общего количества исследованных колоний составила 9%. Во всех случаях базидиальные грибы высевались исключительно из полости тела насекомых.

Исторически сложилось так, что ксилотрофные базидиомицеты только изредка встречались в ассоциации с короёдами (Linnakoski et al., 2012). Появляются новые свидетельства с использованием как классических, так и современных молекулярно-генетических методов, включая клонирование и метабаркодинг о том, что базидиальные ксилотрофные грибы – более распространенные спутники короёдов, чем предполагалось ранее. Так, существует целый ряд сообщений о связи между несколькими таксонами грибов этой группы с короёдом-типографом (Kolařík et al., 2006; Oberwinkler et al., 2006; Persson et al., 2009; Giordano et al., 2013; Linnakoski et al., 2016).

Полученные нами данные еще раз показывают, что короёд-типограф директивно переносит не только виды *Ophiostomataceae*, но и дереворазрушающие грибы из отдела *Basidiomycota*. Традиционным считается мнение, что большинство ксилотрофных грибов распространяется преимущественно с помощью ветра. Однако в последних исследованиях (Jacobsen et al., 2017) было показано, что некоторые обитающие в древесном детрите жуки могут служить векторами для переноса мутуалистически не связанных с ними ксилотрофных грибов. Более того, для конкретного вида насекомого характерен индивидуальный видовой состав переносимых им грибов. Таким образом, прослеживаются новые особенности распространения дереворазрушающих грибов в лесных экосистемах.

В ходе проведенных исследований было показано, что энтомопатогенные грибы составляют немногочисленную группу, доля которой в наружной и внутренней микобиоте короёда не превышала нескольких процентов, что соответствует литературным данным об их встречаемости на живых имаго этого вредителя (Giordano et al., 2013; Linnakoski et al., 2016). Эти микромицеты были выделены из насекомых, собранных в пяти локациях и представлены родами *Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium*. Руководствуясь литературными сведениями и собственными предварительными данными, с высокой долей вероятности можно

предположить, что указанные роды представлены следующими видами – *Beauveria pseudobassiana*, *Isaria farinosa* и *Lecanicillium attenuatum* (Kerchev et al., 2016; Lednev et al., 2017; Linnakoski et al., 2016). Существует значительное количество сообщений о поражении анаморфными энтомопатогенными аскомицетами всех фаз жизненного цикла многих видов жуков-короёдов и, в частности, *Ips typographus* (Kerchev et al., 2016; Jurc, 2004; Wermelinger, 2004; Wegensteiner et al., 1996, 2015; Takov et al., 2007). Наибольшая смертность, обычно наблюдается среди молодых имаго под корой (Kerchev et al., 2016; Wegensteiner et al., 2015). Зараженность короёдов грибами варьирует в широких пределах от спорадического до эпизоотического уровня, от менее одного до 93–99% (Kerchev et al., 2016; Donane, 1959). Полученные нами данные свидетельствуют о том, что перенос энтомопатогенных грибов перезимовавшими в лесной подстилке имаго короёда в период их активного заселения деревьев является одним из основных источников вертикального распространения микозов в популяции вредителя.

Самой многочисленной группой мицелиальных грибов, представленной во всех местонахождениях, выделенных как с поверхности экзоскелета, так и полости тела имаго короёда-типографа, были офиостомовые грибы. Их доля составляла 66 и 81%, соответственно. При этом их удельный вес во внутренней микобиоте короёда был существенно выше в сравнении с поверхностной. Также как и в отношении ксилотрофных базидиомицетов, были отмечены только тривиальные виды *Ophiostomataceae* – *Ophiostoma bicolor*, *Ophiostoma clavatum* complex, *Grosmannia penicillata*, а также не идентифицированные виды *Ophiostomataceae*.

Особый интерес представляет недавно охарактеризованная группа *Ophiostoma clavatum* complex (Linnakoski et al., 2016), включающая в себя семь криптических видов (*O. clavatum*, *O. brunneociliatum*, *O. brunneolum*, *O. macroclavatum*, *O. pseudocatenulatum*, *O. ainoae*, *O. tapionis*), т.к. исследования по ее экологии и распространенности на территории России пока не проводились. Для более тщательной таксономической верификации этой группы *Ophiostomataceae*, представленной в собранной нами коллекции грибов, необходимо применение мультилокусного подхода с использованием генов *betaT*, *TEF-1alpha*, *CAL* в дополнение к уже полученной информации по рДНК.

В большинстве работ сообщается о том, что офиостомовые грибы, как и в нашем случае, являются самой многочисленной группой грибов, ассоциированных с короёдами, и их доля в общей микобиоте превышает 50%. Однако имеются сообщения и о более скудной их встречаемости. Так Джордано с соавт. (Giordano et al., 2013) сообщает о том, что в итальянских Альпах на имаго короёда-типографа грибы данной группы не превышали 13%.

Для лесов Евразии наибольшее значение имеют офиостомовые грибы из родов *Ceratocystis*, *Ceratocystiopsis*, *Grosmannia*, *Ophiostoma*, *Leptographium* и *Pesotum* (Viiri, Lieutier, 2004; Jankowiak, 2005; Hofstetter et al., 2015; Pashenova, Baranchikov, 2015). Известно более 25 видов грибов этой группы, ассоциированных с *Ips typographus* в различных регионах Европы (Kirisits, 2004; Giordano et al., 2013; Linnakoski et al., 2016). Как правило сообщается, что с данным видом короеда связаны *Endoconidiophora polonica* (= *Ophiostoma polonicum*), *Grosmannia penicillata*, *G. piceiperda*, *Ophiostoma ainoae* и *O. bicolor* (Kirisits, 2004; Jankowiak et al., 2009; Repe et al., 2013).

Известно, что видовой состав офиостомовых грибов подвержен значительной сукцессии в зависимости от степени деградации древесины. Показано, что *Endoconidiophora polonica*, не обнаруженный в ходе наших исследований, является самым ранним колонистом заболони после заселения елей короедом, и, следовательно, является в сравнении со многими другими видами более агрессивным (Jankowiak, 2005; Linnakoski et al., 2016). Напротив, имеются многочисленные свидетельства о том, что *Ophiostoma bicolor* и *Grosmannia penicillata* развиваются в зараженном дереве позднее и, следовательно, являются слабопатогенными формами или сапротрофами (Harding, 1989; Jankowiak, Hilszczański, 2005; Linnakoski et al., 2016). В нашем случае доминантами являлись именно эти виды, что свидетельствует о том, что развитие короедов происходит в старых очагах уже на сильно ослабленных, либо на погибших деревьях.

Второй по многочисленности группой грибов, ассоциированной с имаго короеда-типографа были неспециализированные сапротрофы, их доля в общей микобиоте составила 30%. Они были отмечены практически во всех локациях. К этой группе были отнесены грибы из родов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, а также представители отдела *Zygomycota*. Указанные микроорганизмы были в основном локализованы на поверхности кутикулы (26%), в полости тела жуков их доля не превышала 22%.

Известно, что сапротрофные грибы, и в первую очередь представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Penicillium* и *Trichoderma*, довольно часто регистрируются на разных видах короедов, включая *Ips typographus* (Peverieri et al., 2006; Bueno et al. 2010; Giordano et al., 2013; Linnakoski et al., 2016). При этом, по всей вероятности, они не связаны трофически с короедами и являются случайными контаминантами. Об этом дополнительно свидетельствует отсутствие представителей данной группы грибов в полости тела короеда.

Количественная оценка общей плотности КОЕ грибов, приходящихся на одну особь короеда показала, что значение этого показателя варьирует в пределах от 2.2×10^5 до 9.4×10^5 . Отмечено, что некоторые виды мицетофильных жуков могут пере-

носить на поверхности кутикулы аналогичное количество спор грибов. Так, плотность спор только ксилотрофных грибов может достигать 10^4 – 10^5 на особь (Park et al., 2014).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период сбора биологического материала проанализированные популяции короеда-типографа находились в состоянии депрессии. Доля колоний дрожжевых грибов, связанных с имаго короеда во всех локациях, была значительно выше в сравнении с мицелиальными грибами. Количество дрожжей на поверхности кутикулы короеда было существенно выше в сравнении с полостью его тела. С мицелиальными грибами наблюдалась обратная картина.

Мицелиальные грибы были представлены 13 родами. Базидиальные ксилотрофные грибы обнаружены только в полости тела имаго короеда, что свидетельствует о достаточно тесной их взаимосвязи. Энтомопатогенные грибы в незначительном количестве присутствуют почти во всех популяциях короеда, тем самым обеспечивается их вертикальный перенос в популяциях вредителя. Среди офиостомовых грибов доминировали виды, распространённые на вторичных этапах деградации древесины, что свидетельствует о том, что развитие короеда происходило в его старых очагах уже на сильно ослабленных или погибших стволах.

Неспецифичные сапротрофы достаточно широко ассоциированы с короедом-типографом, однако эта связь носит случайный характер.

Представленные научные результаты получены при поддержке РФФИ грант № 17-04-00474 “Биоразнообразие и функциональная роль микобиоты, ассоциированной с короедом-типографом в бореальных лесах Северо-Запада России”, а также в рамках государственного задания ФГБНУ ВИЗР.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bueno A., Diez J.J., Fernández M.M. Ophiostomatoid fungi transported by *Ips sexdentatus* (Coleoptera; Scolytidae) in *Pinus pinaster* in NW Spain. *Silva Fenn.* 2010. V. 44. P. 387–397.
- Doane C.C. *Beauveria bassiana* as a pathogen of *Scolytus multistriatus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1959. V. 52. P. 109–111.
- Faccoli M., Stergulc F. *Ips typographus* (L.) pheromone trapping in south Alps: spring catches determine damage thresholds. *J. Appl. Entomol.* 2004. V. 128. P. 307–311.
- Giordano L., Garbelotto M., Nicolotti G., Gonthier P. Characterization of fungal communities associated with the bark beetle *Ips typographus* varies depending on detection method, location, and beetle population levels. *Mycol. Progress.* 2013. V. 12. P. 127–140.

- Harding S. The influence of mutualistic blue stain fungi on bark beetle population dynamics. PhD Thesis. Royal Veterinary and Agricultural University. Department of Zoology. Copenhagen, 1989.
- Hofstetter R.W., Dinkins-Bookwalter J., Davis T.S., Klepzig K.D. Symbiotic Associations of Bark Beetles. In: E.F. Vega, R.W. Hofstetter (eds). Bark beetles biology and ecology of native and invasive species. Academic Press., Boston, 2015. P. 209–246.
- Jacobsen R.M., Kauserud H., Sverdrup-Thygeson A., Bjorbækmo M.M., Birkenmoe T. Wood-inhabiting insects can function as targeted vectors for decomposer fungi. *Fungal Ecology*. 2017. V. 29. P. 76–84.
- Jankowiak R. Fungi associated with *Ips typographus* on *Picea abies* in southern Poland and their succession into the phloem and sapwood of beetle-infested trees and logs. *For Pathol*. 2005. V. 35. P. 37–55.
- Jankowiak R., Hilszczański J. Ophiostomatoid fungi associated with *Ips typographus* (L.) on *Picea abies* (L.) H. Karst. and *Pinus sylvestris* L. in North-Eastern Poland. *Acta. Soc. Bot. Pol.* 2005. V. 74. P. 345–350.
- Jankowiak R., Kacprzyk M., Młynarczyk M. Diversity of ophiostomatoid fungi associated with bark beetles (*Coleoptera: Scolytidae*) colonizing branches of Norway spruce (*Picea abies*) in southern Poland. *Biologia*. 2009. V. 64. P. 1170–1177.
- Jurc M. Insect pathogens with special reference to pathogens of bark beetles (*Coleoptera, Scolytidae, Ips typographus* L.): preliminary results of isolation of entomopathogenic fungi from two spruce bark beetles in Slovenia. *Zbornik gozdarstva in lesarstva*. 2004. V. 74. P. 97–124.
- Kerchev I.A., Kryukov V.Yu., Yaroslavtseva O.N., Polovinko G.P., Tokarev Yu.S., Glupov V.V. The first data on fungal pathogens (*Ascomycota, Hypocreales*) in the invasive populations of four-eyed fir bark beetle *Polygraphus proximus* Blandf. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2016. V. 4. P. 41–50 (in Russ.).
- Kirisits T. Fungal associates of European bark beetles with special emphasis on the ophiostomatoid fungi. In: F. Lieutier, K.R. Day, A. Battisti, J.-C. Grégoire, H.F. Evans (eds.) Bark and wood boring insects in living trees in Europe, a synthesis. Springer, Dordrecht, 2004. P. 181–236.
- Kirisits T. Fungi isolated from *Picea abies* infested by the bark beetle *Ips typographus* in the Bialowieza forest in north-eastern Poland. *For. Pathol*. 2010. V. 40. P. 100–110.
- Kolařík M., Sláviková E., Pažoutová S. The taxonomic and ecological characterization of the clinically important heterobasidiomycete *Fugomyces cyanescens* and its association with bark beetles. *Czech Mycol*. 2006. V. 58. P. 81–98.
- Kostovčík M., Bateman C.C., Kolařík M., Stelinski L.L., Jordal B.H., Huler J. The ambrosia symbiosis is specific in some species and promiscuous in others: evidence from community pyrosequencing. *ISME J*. 2015. V. 9. P. 126–138.
- Lednev G.R., Uspanov A.M., Levchenko M.V., Sabitova M.N., Kamenova A.S., Abdukerim R., Konurova D.S., Duisembekov B.A., Kazartsev I.A. Causative agents of bark beetle mycoses and prospects for their use in the xylophage population control. *Vestnik zashchity rasteniy*. 2017. V. 92 (4). P. 22–28 (in Russ.).
- Leufvén A., Nehls L. Quantification of different yeasts associated with the bark beetle, *Ips typographus*, during its attack on a spruce tree. *Microb. Ecol*. 1986. V. 12. P. 237–243.
- Linnakoski R., Mahilainen S., Harrington A., Vanhanen H., Eriksson M., Mehtatalo L., Pappinen A., Wingfield M. Seasonal succession of fungi associated with *Ips typographus* beetles and their phoretic mites in an Outbreak Region of Finland. *PLoS One*. 2016. V. 11 (5). e0155622.
- Linnakoski R., Wilhelm de Beer Z., Niemelä P., Wingfield M.J. Associations of conifer-infesting bark beetles and fungi in Fennoscandia. *Insects*. 2012. V. 3. P. 200–227.
- Malakhova E.G. Improvement the forestry practice and the state forest pathological monitoring in spruce stands of the Moscow region. PhD Thesis, All-Russian Research Institute of Silviculture and Mechanization of Forestry, Mytishchi, 2015 (in Russ.).
- Malferrari G., Monferini E., DeBlasio P., Diaferia G. High-quality genomic DNA from human whole blood and mononuclear cells. *Biotechniques*. 2002. V. 33. P. 1228–1230.
- Maslov A.D. Methodical recommendations about supervision, account and mass increase forecast of stem invaders and sanitary condition of the forests. VNIILM, Pushkino, 2006 (in Russ.).
- Maslov A.D. The European spruce bark beetle and spruce stands die-back. VNIILM, Pushkino, 2010 (in Russ.).
- Miller K.E., Hopkins K., Inward D.J.G., Vogler A.P. Metabarcoding of fungal communities associated with bark beetles. *Ecology and Evolution*. 2016. V. 6 (6). P. 1590–1600.
- Müller J., Bussler H., Gossner M., Rettelbach T., Duelli P. The European spruce bark beetle *Ips typographus* in a national park: from pest to keystone species. *Biodivers Conserv*. 2008. V. 17 (12). P. 2979–3001.
- Oberwinkler F., Kirschner R., Arenal F., Villarreal M., Rubio V., Begerow D., Bauer R. Two new pycnidial members of the *Atractiellales: Basidiopycnis hyalina* and *Proceropycnis pinicola*. *Mycologia*. 2006. V. 98. P. 637–649.
- Park M.S., Fong J.J., Lee H., Shin S., Lee S., Lee N., Lim Y.W. Determination of coleopteran insects associated with spore dispersal of *Cryptoporus volvatus* (*Polyporaceae: Basidiomycota*) in Korea. *J. Asia Pac. Entomol*. 2014. V. 17. P. 647–651.
- Pashenova N.V., Baranchikov Yu.N. Ophiostomoid fungi of conifers in Siberia. In: Vserossijskaya konferenciya “Bioraznoobrazie i ehkologiya gribov i gribopodobnyh organizmov severnoj Evrazii”. 2015. P. 198–200 (in Russ.).
- Pashenova N.V., Petko V.M., Kerchev I.A., Babichev N.S. Transfer of ophiostomoid fungi by four-eyed fir bark beetle *Polygraphus proximus* Blandford (*Coleoptera, Scolytidae*) in Siberia. *Izvestia Sankt-Peterburgskoj Lesotekhnicheskoy Akademii*. 2012. V. 200. P. 114–120. (in Russ.).
- Pashenova N.V., Vetrova V.P., Matrenina R.M., Sorokina E.N. Ophiostomoid fungi in tunnels of larch bark beetle. *Lesovedenie*. 1995. V. 6. P. 62–68 (in Russ.).
- Persson Y., Vasaitis R., Långström B., Öhrn P., Ihrmark K., Stenlid J. Fungi vectored by the bark beetle *Ips typographus* following hibernation under the bark of standing trees and in the litter. *Microb. Ecol*. 2009. V. 58. P. 651–659.

- Peverieri G.S., Capretti P., Tiberi R.* Associations between *Tomicus destruens* and *Leptographium* spp. in *Pinus pinea* and *Pinus pinaster* stands in Tuscany, central Italy. *For. Pathol.* 2006. V. 36. P. 14–20.
- Repe A., Kirisits T., Piškur B., De Groot M., Kump B., Jurc M.* Ophiostomatoid fungi associated with three spruce-infesting bark beetles in Slovenia. *Ann. Forest Science.* 2013. V. 70. P. 717–727.
- Rivera F.N., Gómez Z., González E., López N., Hernández Rodríguez C.H., Zúñiga G.* Yeasts associated with bark beetles of the genus *Dendroctonus* Erichson (*Coleoptera*, *Curculionidae*, *Scolytinae*): molecular identification and biochemical characterization. In: B. Bentz, A. Cognato, K. Raffa (eds). *Proceedings from the Third Workshop on genetics of bark beetles and associated microorganisms.* Fort Collins, US, 2007. P. 45–48.
- Sallé A., Monclus R., Yart A., Garcia J., Romary P., Lieutier F.* Fungal flora associated with *Ips typographus*: frequency, virulence, and ability to stimulate the host defence reaction in relation to insect population levels. *Can. J. For. Res.* 2005. V. 35. P. 365–373.
- Selikhovkin A.V., Varentsova E.Ju., Popovichev B.G.* Clear sanitation felling as a method of control of the population density of stem pests and spreading of dendro-pathogenic organisms under the current conditions using Leningrad Region as a case study. *Izvestia Sankt-Peterburgskoy Lesotekhnicheskoy Akademii.* 2017. V. 220. P. 186–199 (in Russ.).
- Six D.L.* Bark beetle-fungus symbioses. In: *K. Bourtzis, T.A. Miller* (eds). *Insect Symbiosis.* CRC Press, Boca Raton, 2003. P. 97–114.
- Six D.L., Wingfield M.J.* The role of phytopathogenicity in bark beetle – fungus symbiosis: a challenge to the classic paradigm. *Ann. Rev. Entomol.* 2010. V. 56. P. 255–272.
- Solheim H.* Fungal succession in sapwood of Norway spruce infested by the bark beetle *Ips typographus*. *Eur. J. For. Pathol.* 1992. V. 22. P. 136–148.
- Takov D., Doychev D., Wegensteiner R., Pilarska D.* Study of bark beetle (*Coleoptera*, *Scolytidae*) pathogens from coniferous stands in Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica.* 2007. V. 59 (1). P. 87–96.
- Vega E.F., Dowd P.F.* The role of yeast as insect endosymbionts. In: *E.F. Vega, M. Blackwell* (eds.) *Insect-fungal associations: Ecology and evolution.* Oxford University Press, N.Y., 2005. P. 211–243.
- Viiri H., Lieutier F.* Ophiostomatoid fungi associated with the spruce bark beetle, *Ips typographus*, in three areas in France. *Ann. Sci. For.* 2004. V. 61. P. 215–219.
- Wegensteiner R., Weiser J., Führer E.* Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (*Coleoptera*, *Scolytidae*). *J. Appl. Entomol.* 1996. V. 120. P. 199–204.
- Wegensteiner R., Wermelinger B., Herrmann M.* Natural enemies of bark beetles: predators, parasitoids, pathogens and nematodes. In: *F.E. Vega, R.W. Hofstetter* (eds.) *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species,* Elsevier, London, 2015. P. 247–304.
- Wermelinger B.* Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – a review of recent research. *For. Ecol. Manag.* 2004. V. 202. P. 67–82.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White* (eds.) *PCR protocols: A guide to methods and applications.* Academic Press, San Diego, 1990. P. 315–322.
- Керчев И.А., Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Половинко Г.П., Токарев Ю.С., Глунов В.В.* (Kerchev et al.) Первые сведения о грибных патогенах (Ascomycota, Нуроскреales) в инвазийных популяциях уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. // *Российский журнал биологических инвазий.* 2016. № 4. С. 41–50.
- Леднев Г.Р., Успанов А.М., Левченко М.В., Сабитова М.Н., Каменова А.С., Абдукерим Р., Коңурова Д.С., Дуйсембеков Б.А., Казарцев И.А.* (Lednev et al.) Возбудители микозов жуков-короедов и перспективы их использования для снижения численности данной группыксилофагов // *Вестник защиты растений.* 2017. Т. 92. № 4. С. 22–28.
- Малахова Е.Г.* (Malakhova) Совершенствование лесоводственных мероприятий и государственного лесопатологического мониторинга в еловых лесах Московской области: автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук. Мытищи, 2015.
- Маслов А.Д.* (Maslov) Короед-типограф и усыхание еловых лесов // *Пушкино: ВНИИЛМ,* 2010.
- Маслов А.Д.* (Maslov) Методические рекомендации по надзору, учету и прогнозу массовых размножений стволовых вредителей и санитарного состояния лесов // *Пушкино: ВНИИЛМ,* 2006.
- Пашенова Н.В., Баранчиков Ю.Н.* (Pashenova, Varanchikov) Офиостомовые грибы хвойных пород в Сибири // *Биоразнообразие и экология грибов и грибоподобных организмов Северной Евразии: материалы Всероссийской конференции с международным участием,* Екатеринбург, 20–24 апреля 2015 г. Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2015. С. 198–200.
- Пашенова Н.В., Петько В.М., Керчев И.А., Бабичев Н.С.* (Pashenova et al.) Перенос офиостомовых грибов уссурийским полиграфом *Polygraphus proximus* Blandford (*Coleoptera*, *Scolytidae*) в Сибири // *Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии.* 2012. № 200. С. 114–120.
- Пашенова Н.В., Ветрова В.П., Матренина Р.М., Сорокина Е.Н.* (Pashenova et al.) Офиостомовые грибы в ходах большого листовничного короеда // *Лесоведение.* 1995. № 6. С. 62–68.
- Селиховкин А.В., Варенцова Е.Ю., Поповичев Б.Г.* (Selikhovkin et al.) Сплошные санитарные рубки как метод контроля плотности популяций стволовых вредителей и распространения дендропатогенных организмов в современных условиях на примере Ленинградской области // *Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии.* 2017. № 220. С. 186–199.

Mycobiota Associated with the European Spruce Bark Beetle (*Ips typographus*) in Leningrad Region

G. R. Lednev^a, M. V. Levchenko^a, and I. A. Kazarstev^{a,b,#}

^a All-Russian Institute of Plant Protection, Saint Petersburg, Russia

^b Saint Petersburg State Forest Technical University, St. Petersburg, Russia

[#] E-mail: kazartsev@inbox.ru

To estimate the taxonomical composition of mycobiota associated with the European spruce bark beetle, in May 2017 the bark beetles were caught by pheromone traps at the eight locations of Leningrad Region. In all surveyed locations population of bark beetles were in depression. Evaluation of a bark beetle superficial and internal mycobiota was performed by inoculation of solid nutrient medium with cuticle washouts and surface sterilized corpses correspondingly using spread plate method. Identification of fungi was carried out by means of light microscopy and sequencing of rDNA. At all locations the proportion of yeasts associated with bark beetles was significantly higher in comparison to filamentous fungi. Quantity of colonies on the beetle cuticle was higher than in internal specimens. The taxonomical structure of filamentous fungi was presented by thirteen genera which members can be designated to four ecological groups: wood decay (*Bjerkandera*, *Fomitopsis*, *Irpex*, *Polyporus*) entomopathogenic (*Beauveria*, *Isaria*, *Lecanicillium*), wood stain (*Ophiostoma*, *Grosmannia*) and unspecialized saprotrophic (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium* and members of phylum of *Zygomycota*) fungi. Wood decay fungi were found only in internal mycobiota of bark beetle that testifies to their rather close interrelation. Entomopathogens were presented almost at all locations in insignificant quantity. Among the ophiostomatoid fungi the weak pathogens or saprotrophic species dominated. Nonspecific saprotrophs are rather widely co-occur with the bark beetles. However, this association had casual character.

Key words: Entomopathogenic fungi, European spruce bark beetle, ophiostomatoid fungi, wood-decay fungi