

НУБІП України

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

НУБІП України

06.02 – МКР. 203 «С». 2023.02.13.023 ІІЗ

ПОЛОНСЬКА ЛАРИСА ПАВЛІВНА

НУБІП України 2023

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Декан факультету Завідувач кафедри
захисту рослин, біотехнологій та Ентомології, інтегрованого захисту та
екології карантину рослин

_____ Коломієць Ю.В. _____ Доля М.М.

«__» _____ 2023 р. «__» _____ 00 2023 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА
на тему «Біологічні особливості ентомопатогенних нематод та
ефективність їх використання на ягідниках»
Спеціальність 202 «Захист і карантин рослин»
(код і назва)
Освітня програма «Захист рослин»
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
Керівник магістерської роботи
к. б. наук, доцент Стефановська Т.Р.
(науковий ступінь та вчене звання) (підпис) (ПІБ)

Виконав _____ Полонська Л.П.
(підпис) (ПІБ студента)

КИЇВ-2023

Національний університет біоресурсів
і природокористування України

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

Кафедра ентомології, інтегрованого захисту та карантину рослин

Освітній ступінь «Магістр»

Спеціальність 202 «Захист і карантин рослин»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри ентомології,
інтегрованого захисту та
карантину рослин

“ ” _____ 2023 р.

ЗАВДАННЯ

**НА ВИПУСКНУ
МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ**

Полонській Ларисі Павлівні

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи **«Біологічні особливості ентомопатогенних нематод та ефективність їх використання на ягідниках»**

керівник роботи к.б.н., доцент Стефановська Тетяна Робертівна,

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

2. Строк подання студентом роботи 1 листопада 2023 року

3. Вихідні дані до роботи ентомопатогенні нематоди, що паразитують на борозенчастому скосарі

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

4.1. Вивчати біологічні особливості травневих жуків

4.2. Ознайомитися з методиками досліджень з ентомопатогенних нематод

4.3. Дослідити ефективності ентомопатогенних нематод проти борозенчастого скоса

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата завдання видав	завдання прийняв
1	Стефановська Т.Р.	Стефановська Т.Р.	Полонська Л.П.
2	Стефановська Т.Р.	Стефановська Т.Р.	Полонська Л.П.
3	Стефановська Т.Р.	Стефановська Т.Р.	Полонська Л.П.

6. Дата видачі завдання 1 вересня 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Аналіз та вивчення питання та написання огляду літератури	Вересень-жовтень	Виконано
2	Ознайомлення з методикою проведення досліджень	Листопад-грудень	Виконано
3	Ознайомлення з методикою розведення ентомопатогенних нематод	Лютий-березень	Виконано
4	Проведення досліджень в лабораторії	Квітень-травень	Виконано
5	Аналіз отриманих результатів та написання роботи	Серпень-жовтень	Виконано

Студент

(підпис)

Керівник роботи

(підпис)

Полонська Л.П.

(прізвище та ініціали)

Стефановська Т.Р.

(прізвище та ініціали)

НУБІП України

Реферат
Біологічні особливості ентомопатогенних нематод та ефективність їх використання на ягідниках

НУБІП України

Робота виконана на 52 сторінках, містить 3 розділи, 3 рисунки, 2 таблиці, 57 використаних джерел.
Мета роботи ознайомитися з біологічними особливостями ентомопатогенних нематод та їх ефективність на прикладі личинок борозенчастого скосаря

НУБІП України

У магістерській роботі проаналізовано сучасний стан вивчення питання контролю чисельності шкідників суниці із використанням хімічних та біологічних методів. Висвітлено біологічні особливості борозенчастого скосаря та стратегії зараження цього небезпечного шкідника ентомопатогенними нематодами. В дослідженнях для контролю чисельності борозенчастого скосаря використовували ентомопатогенну нематоду, що була виділена з плодового саду в зоні лісотеру України. Нематоду розводили на інфекційних личинок на гусені вощаної молі *Galeria melonella* за сучасною методикою. Результати проведених досліджень показує ефективність застосування ентомопатогенних нематод на борозенчастому скосарі.

НУБІП України

Ключові слова: ентомопатогенні нематоли, борозенчастий скосар, розведення, суниця

НУБІП України

Зміст

Вступ.....	8
1. АНАЛІЗ ВИВЧЕННЯ ПИТАННЯ	
1.1. Загальна характеристика та господарське значення суніці.....	10
1.2. Технологія вирощування суніці.....	12
1.3. Загальні відомості про довгоносиків на суніці.....	15
1.4. Загальні відомості про ентомопатогенних нематод.....	21
1.4.1. Морфологія та таксономія ентомопатогенних нематод.....	21
1.4.2. Характеристика основних родин ентомопатогенних нематод.....	24
1.4.3. Біологічні особливості ентомопатогенних нематод.....	27
1.4.4. Вплив абіотичних факторів на розвиток ентомопатогенних нематод.....	29
1.4.5. Особливості поведінки ентомопатогенних нематод.....	32
1.4.6. Симбіотичні відносини ентомопатогенних нематод з бактеріями.....	34
1.4.7. Взаємовідносини ентомопатогенних нематод з комахами, що є їхніми господарями.....	36
2. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	40
2.1. Методика вивчення циклу розвитку ентомопатогенних нематод.....	40
2.2. Виділення ентомопатогенних нематод з ґрунту та розмноження нематод в комах господаря.....	41
2.3. Лабораторне розведення ентомопатогенних нематод.....	44
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	45
3.1. Репродуктивний потенціал личинок борозенчастого скосаря.....	45
3.2. Біологічні особливості розвитку <i>Heterhorabditis bacteriophora</i> на борозенчастому скосарі.....	47

3.3. Вплив використання ентомопатогенних нематод на смертність

НУБІП України	48
борозенчастого скосаря.....	49
Висновки.....	49

Список використаної літератури.....50

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУВБІП УКРАЇНИ

Вступ

Важливим напрямком біологічного контролю шкідників є використання їх природних ворогів : паразитів, хижаків, патогенів.

НУВБІП УКРАЇНИ

Ентомопатогенні нематоди відомі як паразити комах, більшість з яких належить до небезпечних шкідників, особливо, проти тих, життя яких пов'язане із ґрунтом. До таких шкідників належить капустянка звичайна

Grillotalpa grilloptalpa.

НУВБІП УКРАЇНИ

ЕІН мають низку переваг які забезпечують їх високу ефективність при застосуванні у біологічному захисті рослин

- Безпека для людини, домашніх тварин, оджіл та інших корисних комах, а також риб і дощових черв'яків.

НУВБІП УКРАЇНИ

- Нематоди "працюють" у ґрунті після одноразового застосування препарату ще кілька років. При цьому два роки вони залишаються активними, навіть за повної відсутності іжі - личинок комах.

НУВБІП УКРАЇНИ

- Ентомопатогенні нематоди знищують комах на стадії личинок, значно знижують чисельність популяції і мінімізують шкоду, яку вони завдають.

Дослідження ентомопатогенних нематод проводять у більш ніж 100 лабораторіях 60 країн світу, особливо в останні 30 років. На Україні такі дослідження розпочалися нещодавно. Вже знайдено декілька рас видів нематод видів *S. carpocapsae* та *H. bacteriophora*,

НУВБІП УКРАЇНИ

Препарати основи нематод для комерційного використання виробляють 13 компаній, з яких найбільш потужними є Biobest, Syngenta, Corrent та E-nema. Препарати на основі *H. bacteriophora* рекомендовано використовувати проти скосарів на ягідниках овочевих культурах. На даний

час в Україні великої шкоди завдають довгоносики на ягідниках. Особливо великих збитків завдають личинки та дорослі комахи, можуть повністю знищити врожай культури. Одним з причин збільшення шкодочинності є те,

що зважаючи на біологію шкідника дуже складно можливо провести належну хімічну обробку. Тому дуже важливим є використання природних

регулюючих механізмів, зокрема ентомопатогенних нематод та розробка нехімічних екологічно спрямованих методів захисту капусти від цих небезпечних шкідників. В зв'язку з тим, мета нашого дослідження було

вивчення лабораторної ефективності використання нематоди *H.*

bacteriophora проти борошенчатого скосаря на суниці.

1. АНАЛІЗ ВИВЧЕННЯ ПИТАННЯ

1.1. Загальна характеристика та господарське значення суниці

Суниця - дуже важлива культура в світі, тому вона досить поширена в колі садівництва та плідництва, також багато сортів вирощуються, і вона широко використовується в харчовій промисловості [1]

Надземна система суниці має три типи пагонів, які різняться за своїми морфологічними і біологічними функціями [2]

Перший тип - укорочені пагони, або ріжки. Кожен добре розвинений ріжок містить верхушечну (термінальну) нирку, розетку з трьох-пяти листків, бічні пазушні бруньки (у пазухах листків) і додаткові корені. Нові ріжки розвиваються з пазушних бруньок нижніх листків.

Другий тип - вуса, які утворюються з вегетативних бруньок. На вусах формуються дочірні рослини - розетки і вуса наступних порядків розгалуження

Третій тип - квітконоси. Вони розвиваються з нирок верхівкових і в пазухах верхніх листків. Квітконоси відмирають після закінчення періоду плодоношення. Квітконос має помилкову парасольку.

Плід суниці - помилкова ягода, яка утворюється з розрослого м'ясистого квітколожа. Власне плоди - це сім'янки, що розвиваються з запліднених семязачатків. Плоди різних сортів суниці значно різняться за величиною,

забарвленням, смаком і хімічним складом. Величина ягід і їх вага залежать

від сорту, порядку розташування ягід на квітконосі, строків дозрівання, а також від віку та стану рослин. Великоплідного вважаються сорти суниці, середня вага ягід яких дорівнює 10-15г і вище, сорти вагою ягід 6-9г

вважаються середніми за величиною, і дрібноплідних - вага ягід яких не перевищує 4-5г.

Більшість сортів садової суниці мають двостатеві квітки. Значно менше квіток з одностатевими жіночими квітками. У сортів з двостатевими квітками

при самостійному запиленні відсоток зав'язування плодів завжди нижче, ніж при вільному перехресному запиленні [3,4]

Більша частина суниці полягає у харчовій промисловості, з цієї культури виготовляють продукти харчування, такі як джеми, варення тощо, її нерідко заготовляють взимку. Суниці також використовують в медицині [5,6].

1.3. Технологія вирощування суниці

Технологій суниці досить багато, одними з таких технологій вирощування суниць є:

Розсада - вкоріненими розетками, що утворюються на вусиках, ріжками, поділом куша, насінням, меристемою в культурі тканин. До речі, останній спосіб розмноження є основним методом вирощування здорової (безвірусної) розсади [7,8].

Важливим елементом у сучасних технологіях вирощування ягідних культур є використання високоякісного садивного матеріалу. В умовах промислової культури суницю розмножують розсадною, вирощеною з вусів [9,10]

Вусами-пагонами вегетативного розмноження виростають із пазушних бруньок нижніх листків рослини всередині літа.

Для вирощування суниці в Україні раніше використовували свіжовикопану розсаду, яку висаджували восени (кінець серпня, вересень-жовтень) або навесні (квітень-травень). Осіннє висаджування було для тогочасу переважним, бо тоді можна було отримати врожай. Крім того, сприятливі вологість і температура забезпечували краще приживання розсади. Варто відзначити, що лише добре розвинена розсада з перших вузлів столона здатна закласти квітконоси протягом осінньої вегетації.

Весняні насадження навіть добре розвиненою розсадною менш ефективні через стресові умови вегетації (перепад температур, нестача вологості).

Хоча свіжу розсаду все ще використовують для осіннього садіння, але щораз більше господарств починають застосовувати сучасні інтенсивні технології вирощування суниці, що передбачають використання розсади типу фріго - „Frigo

Фріго - це розсада садової суниці, яка вирощена на розсадницьких ділянках, викопана пізньої осені, очищена, обрізана, зібрана у пучки і оброблена в розчинах для результативного зберігання та зберігається у герметичній упаковці у сучасних холодильних камерах. При постійній мінусовій температурі $-1,5-1,8^{\circ}\text{C}$ проходять усі необхідні фізіологічні цикли «зимівлі».

Щодня проводяться автоматичні вимірювання температури для забезпечення найкращих умов охолодження та зберігання. При необхідності клімат налаштовується безпосередньо.

Технологія вирощування цих саджанців передбачає викопування рослин з маточника у другій половині листопада. При цьому маточні плантації заздалегідь підкошують і молоді саджанці відрізаються від маточників [11,12].

Свіжа розсада. Садиться вона в серпні - на початку вересня, або навесні - до кінця травня. Найчастіше в серпні-вересні прополювання грядки від вусів поєднують з розсаджуванням. Чим раніше посаджено розсаду, тим більшу товщину наростить саджанець і закладе більше плодкових бруньок-режків.

Під маточні ділянки відводять кращі, добре розвинені та окультурені ґрунти, вільні від кореневищних і коренепаросткових бур'янів й ґрунтових шкідників.

Сівозміна. Під сівозміну маточних насаджень суниці обирають рівні площі чи пологі схили нахилом до $3-5^{\circ}$. Їх закладають на відстані 1,5-2 км від товарних плантацій. Маточні насадження суниць у сівозміні використовують 1-2 роки. На попереднє місце маточник суниці може повертатися не раніше ніж через 3-4 роки, а тому в сівозміні має бути не менше 4-5 полів на достатньо родючих окультурених ґрунтах, і 6-8 полів - на інших.

У маточні сівозміни вводять культури, стійкі до нематод, кореневої гнилі, вертацильозного в'янення, зокрема злакові трави, зернові, кормові та просапні. Не вводять у сівозміну

Орієнтовне чергування культур по роках:

Перший варіант: 1 рік – чорний пар; 2 – суниця; 3 – культури на зеленому кормі; 4 – зернові ярі; 5 – зернові озими.

Другий варіант: 1 рік – чорний пар; 2 – суниця; 3 – суниця; 4 – просапні; 5 – ярі зернові; 6 – озимі зернові; 7 – сидеральний пар.

Внесення добрив. У паровому полі під передсадивну оранку вносять 40-100 т/га гною чи компосту, фосфорні та калійні добрива – залежно від родючості ґрунту. Для середньозабезпечених ґрунтів достатньо Р60К80.

Ефективне внесення органічних добрив після збирання зернових, що передують чорному пару.

Знезараження площі. На площах, заражених личинками хруща і дроздяниками, вносять аміачну воду (1500-2000 л/га). На полях, де внесено гній і вапно, а також за вмісту в ґрунті понад 30% глини та понад 5% органічної речовини фумігація не дає ефекту. Фумігують ґрунт у серпні-вересні, після чого його герметизують коткуванням і поливом.

Підготовка ґрунту. Дерново-підзолисті ґрунти орять на глибину 20-22 см, глибокогумусні – на 27-30 см. Чорний пар готують після збирання врсжаю попередника, застосовуючи лущення стерні, оранку та 6-7-разову культивуацію з боронуванням. За потреби використовують гербіциди.

Безпосередньо перед садінням розсади культивують з одночасним боронуванням, а легкі ґрунти, крім того, коткують для забезпечення нормальної глибини садіння.

Підготовка розсади. Для закладання репродукційних маточників суниць використовують елітну чистосортну стандартну розсаду. До садіння розсаду готують в затіненому місці: видаляють зайві листки, залишаючи не більше двох-трьох на рослині, кореневу систему вкорочують до 8-10 см і вмочують у земляну бовтанку. Зав'язлі рослини вкладають коренями в місткості з водою для відновлення тургору.

Садіння розсади проводять навесні, у перших 5-6 днів польових робіт, так і восени – у вересні. Осінньому садінню віддають перевагу в регіонах з достатньою кількістю опадів у цей період та м'якими і сніжними зимами

1.4. Загальні відомості про довгоносиків на суниці

До родини довгоносики – Curculionidae відноситься велика кількість шкідливих видів, що призводять до зниження врожаїв малини та суниці.

Малинний довгоносик – *Anthonomus rubi* Hbst [13,14,15]

Жук завдовжки 2–3 мм, овальний, чорний з коричневим відтінком, вкритий тонкими світло-сірими волосками; щиток білий; головотрубка довга, тонка, дещо зігнута; вусики колінчасто-булавоподібні, ноги тонкі, довгі. Спочатку жуки живляться листками, вигризаючи в них отвори, потім переходять на

бутони й видають їх вміст. Після відкладки яйця самка надгризає квітконіжку, від чого бутони зависають на волокнинках або опадають.

Личинка довжиною 2,5–3 мм, біла, серпоподібна з жовто-коричневою головою; розвивається усередині бутона, живлячись його вмістом.

Пошкоджує малину, ожину, суницю, троянду, шипшину. Зимують жуки у поверхневому шарі ґрунту, під опалим листям. Виходять у кінці квітня – на початку травня. Пошкоджують листя, потім бутони. Самка відкладає по одному яйцю в бутон і підгризає квітконіжку. Яйце розміром 0,35–0,5 мм, біле. Плодючість – до 50 яець. Личинки живляться в бутоні. Закінчивши розвиток, там же заляльковуються. Через 7–9 діб з'являються жуки (друга

половина липня) і додатково живляться на листі малини, суниці, ожини. У вересні жуки переходять на зимівлю. Генерація однорічна.

Сірий або землистий кореневий довгоносик – *Sciaphilus asperatus* Bousd.

Пошкоджує малину, суницю, та інші культури. Зимують жуки у поверхневому шарі ґрунту і під сухим листям. Можуть зимувати і личинки.

У кінці квітня – на початку травня виходять жуки і додатково живляться листям. Яйця відкладають групами по 2–3 (до 60–70) за прилистки і заливають їх виділеннями, які твердіють на повітрі. Яйце розміром 0,65 мм, жовтувато-біле, блискуче. Плодючість – 400–500 яець. Личинки проникають

у ґрунт, де живляться корінцями. Через 30 діб заляльковуються. Жуки виходять у липні. Можуть відкладати яйця, з яких відроджуються личинки, що залишаються на зимівлю. У вересні жуки переходять у місце зимівлі.

Частина з них може жити 2–3 роки. Коріння суниці пошкоджують також личинки кронивного листового довгоносика – *Phyllobius urticae* Deg. і чорного скосяря – *Otyorrhynchus ovatus* L. Жуки цих видів пошкоджують листя [16,17,18].

Скосар кримський – *Otiorhynchus asphaltinus* Germ. Пошкоджує виноград, рідше плодове дерева та ягідні чагарники. Яйце розміром 0,6–0,7 мм, овальне, жовтувато-коричнєве. Личинка довжиною 10–12 мм, світло-жовта, дугоподібно зігнута, зморщена, вкрита рідкими жорсткими волосками, голова коричнева. Лялечка довжиною 10–11 мм; біла з двома шипиками на

вершині черевця. Зимують статевонезрілі жуки, а також личинки, що не закінчили розвиток, у ґрунті та під рослинними рештками. Весною додатково живляться бруньками винограду. З появою листків жуки живляться ними до осені. Самка відкладає яйця по одному або групами у ґрунт. Відроджені через

10–12 днів личинки живляться спочатку рослинними рештками, пізніше корінням виноградної лози. Личинки, відроджені із раніше відкладених яєць, встигають закінчити розвиток, залялькуватися, і новоутворені жуки (з недорозвиненими личинками) залишаються на зимівлю. Жуки живуть 2–3 роки, за цей час відкладають до 1500 яєць

Борозенчастий скосяря *Otiorhynchus sulcatus*

Довгоносик-жук завдовжки має чорне тільцем, укрите поодинокими сірими ворсинками. Його надкрила пописані поздовжніми борозенками, а на подовженій голові розташований довгий хоботок. Самиці довгоносика відкладають яйця в усіх органах полуниці: коренях, квітках, бутонах, листках і стеблах. [19,20].

Життєвий цикл скосяря борозенчатого скосяря складається з таких стадій: яйце, 6 або 7 вікових стадій личинки, стадія лялечки та імаго.

помірнокліматі Північної півкулі перші дорослі жуки зазвичай з'являються в травні. Їхня довжина становить 7–10 мм, вони мають коричневатого-чорне забарвлення і темні жовті плями на спині. Надкрила рифлені, зрощені з тілом. Отже, борозенчастий скосяря не може літати, але відмінно повзає. Спосіб

життя суворо нічний; протягом дня жук ховається і часто можуть бути виявлені між внутрішньою частиною горщика з рослиною і його можна знайти під шматками землі, в рослинності, під дошками тощо. У помірному

кліматі маленькі (0,7 мм) круглі білі яйця відкладаються з початку липня до кінця жовтня [21,22]. У молодих личинок біле, напівпрозоре рожеве тіло і

червонувато-коричневатоголова. Вони живуть у прикореневій зоні в ґрунті, де харчуються корінням. Личинки не мають ніг, а довжина під час вибування становить близько 1 мм, але збільшується приблизно до 12 мм. Личинки

часто скручуються і приймають типову С-подібну форму, якщо їх потурбувати. Тіло вкрите жорсткими білими і світло-коричневими зігнутими

волосками. Скосар борознистий зимує на стадії личинки, зазвичай середніх розмірів. Як тільки температура підвищується, личинки активізуються

[23,24]. Заляльковування личинок, що вирости, відбувається навесні в ґрунті.

Лялечки можна зустріти на глибині від 2 до 20 см. Вони забарвлені в білий або кремовий колір, а їхня довжина коливається в межах 7-10 мм.

У відкритому ґрунті щороку з'являється одне покоління. Популяція екозара борозенчастого складається винятково з самок і вони розмножуються

партеногенезом. Оскільки скосар борознистий не може літати, його

поширення обмежене порівняно з багатьма іншими комахами. Поширення на великі відстані зазвичай відбувається із зараженим рослинним матеріалом.

Для початку нової популяції достатньо однієї самки, оскільки *Otiorynchus sulcatus* є партеногенетичним видом [25,26].

Основна шкода спричинена живленням личинок корінням. Після того, як личинки з'їдають коріння, вони переміщуються на бульби, кореневища і

стебла рослини. Личинки також можуть харчуватися на поверхні землі на стеблах рослин. Як дорослі жуки, так і личинки багатоїдні і харчуються

великою кількістю різних видів рослин. Великі популяції личинок можуть знищити рослину у відкритому ґрунті. Укорінені рослини більш стійкі до

ураження, ніж молоді рослини або шойно висаджені живці. Дорослі жуки активні тільки ночами і виїдають круглі шматочки з листя, починаючи з

країв. Такі пошкодження зазвичай не є проблемою для овочів і фруктів, але знижують цінність декоративних рослин.

Оскільки важко боротися з личинками, що мешкають у ґрунті, заходи по боротьбі спрямовані насамперед проти жуків, щоб запобігти загрозі для надземних частин кущів і відкладення яєць. Найкращим і найефективнішим методом виявилось запилення препаратом алдрину поверхні ґрунту навколо кожного виноградного куща. Таке покриття ґрунту отрутохімікатом неминуче призводить до контакту під час руху жуків від куща до куща і до їхнього знищення. Цей обробіток ґрунту потрібно проводити ранньою весною до виходу і початку живлення жуків.

Через 1-3 тижні з яєць виходять світло-жовті з коричневою головою личинки, позбавлені ніг і зігнуті, як личинки хруща. Вони живляться на молодих, а пізніше також і на старіших коренях винограду і тому вважаються дуже небезпечними шкідниками насаджень. У разі сильного заселення кущі, що хирнуть і гинуть, виглядають як осередок філоксери. Глибоко-вкорінені сорти, які отримують гарне живлення, менше страждають від цих шкідників, ніж сорти з поверхневою кореневою системою і погано забезпеченим живленням. Важкі зв'язні ґрунти запобігають розвитку личинок. Личинки перезимовують у різних личинкових стадіях і заляльковуються навесні, досягнувши довжини близько 1 см. З лялечок кольору слонової кістки незабаром видуплюються жуки, які живуть до трьох років і в перший же рік відкладають до 500 яєць, а в другий - до 700.

З'явившись із яєць, личинки харчуються тканинами рослини, а потім у них же і заляльковуються, і ближче до середини липня зі зруйнованою личинкою органу виходить дорослий жук, який до середини серпня пошкоджуватиме листя й черешки на вашій полуниці, а потім піде на зимівлю в верхній шар ґрунту або зарийється в сухе листя. Найбільше потерпають від довгоносиків ранні сорти рослини. Самиця довгоносика, відклавши яйце в бутон, надгризає квітконіжку, і бутон поступово засихає. Зимує шкідник в опалому листі,

компостній купі. Для нанесення великої потворності листю, цвітінню і стволам рослин вистачить і декількох особин, а личинки можуть пожекти безліч зеленої розсади.

1.4. Загальні відомості про ентомопатогенні нематоди

1.4.1. Морфологія та таксономія ентомопатогенних нематод

Нематоди організмів, що мають невеликі розміри (0,5 - 500 мкм). Це не сегментовані організми. Вони мають веретеноподібну форму. У поперечному розрізі округлі. Тіло поділяється на три відділи: передній відділ, власне тіло та хвостовий відділ. Усі три відділи не мають між собою різких меж [28]. Передній відділ складається із двох відділів – головного, чи головної капсули, і глоткового. У центрі головного відділу знаходиться ротовий отвір, що оточений рухомими губами та нерухомими головними буграми. На головній капсулі розміщується комплекс органів чуття. Через глоткову ділянку проходить стравохід, що являє собою частину передньої кишки. У середньому відділі (власне тілі) розміщені: середня кишка та статеві залози із їх протоками. Межею хвостового відділу вважається анальний отвір[31]

В цілому вирізняють тридцять родин нематод, які мають здатність заражувати комах. Для цілей біологічного захисту рослин потенційне значення мають сім головних родин нематод, а саме: Steinernematidae, Heterorhabditidae, Mermithidae, Allantonematidae, Neotylenchidae, Sphaerularidae, Rhabditidae. Практичне ж використання на сучасному етапі знайшли нематоди, представлені двома родинами: Steinernematidae (35 видів нематод) і Heterorhabditidae (9 видів нематод). Нематоди родини Steinernematidae та Heterorhabditidae належать до типу первиннополостних Nematelminthes, класу нематод Nematoda, підкласу фазмідієвих Secernenta, ряду Rhabditidae. Основними етапами розвитку таксономії ентомопатогенних нематод є структуризація критеріїв для опису видів; інтерпретація філогенетичних взаємовідносин у класі Nematoda. Для визначення різних

видів нематод на сьогодні використовують в основному методи молекулярної біології

НУБІП України

Клас *Adephorea* (син. *Arhasmidia*)

Ряд *Mononchida*

Родина *Plectidae*

НУБІП України

Ряд *Stichosomida*

Родина *Mermithidae*

Tetradonematidae

НУБІП України

Клас *Secernentea* (син. *Phasmidia*)

Ряд *Rhabditida*

Родина *Carabonematidae*

Cephalobidae

Chambersiellidae

НУБІП України

Heterorhabditidae

Oxyuridae

Panagrolaimidae

Rhabditidae

НУБІП України

Stemernematidae

Syrphonematidae

Thelastomatidae

Ряд *Spirurida*

НУБІП України

Родина *Filaridae*

Onchocercidae

Physalopteridae

Syngamidae

Spiruridae

НУБІП України

Sudulutidae

Thelaziidae

Ряд *Diplogasterida*

Родина *Diplogasteridae*
Cylindrocorporidae
Ряд *Tylenchida*
Родина *Allantonematidae*

Aphelenchidae
Aphelenchoididae
Entaphelenchidae
Phaenopsitylenchidae

Sphaerulariidae
Tylenchidae

1.4.2. Характеристика основних родин ентомопатогенних нематод

Родина Штейнерматида (Steinernematidae). Для нематод цієї родини притаманні слабозвинені губи і коротка ротова порожнина. Стравохід у передній частині не потовщений, за навкологлотковим нервовим кільцем поступово розширюється в слабозвинений бульбус.

Відомо 17 видів родини. Більшість із них належить до роду *Steinernema* (Neoaplectana). Вони порівняно великі: дорослі самки до 8 мм довжиною, самці – 2,5 мм, личинки – 0,7 мм. До цього роду належать *Steinernema glaeseri*, яка спричиняє загибель личинок японського жука та інших пластинчатовусих, гусениць стеблового метелика і бавовникової совки. Вид *Steinernema feltiae* Fil. розвивається на озимій совці і спричиняє загибель гусениць.

Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae паразитує на гусеницях яблунової плодожерки.

Родина диплогастерида – *Diplogasteridae*. Короткі нематоди веретеноподібної форми. Ротова порожнина – стома має бокалоподібну форму. Стравохід перед навкологлотковим нервовим кільцем з розширенням, утвореним м'язами метакорпального бульбуса. Друге потовщення у задній частині стравоходу – кардинальний бульбус – не має м'язів і перетворений у залозне утворення. Більшість представників родини вільно живуть у ґрунті, воді, загниваючих частинах рослин, де живляться бактеріями та іншими

мікроорганізмами. Нематода *Pristionchus imiformis* Fed Ei Stan, у симбіозі з бактеріями викликає загибель колорадського жука – до 85% під час зимівлі. Але зараження колорадського жука інвазійними личинками нематоди в період його активності не відбувається.

Родина Алантонематида – *Allantonematidae*. Ці нематоди мають кільчасту кутикулу, ротові органи – гострий спис, у стравохід впадає кінець протоки слинної залози, який відкривається безпосередньо за стилетом. Гоноди розвинені сильно, особливо яєчники. Зв'язки представників родини з комахами різноманітні – від симбіонтів, які прикріплюються до шкіряного

покриву живителя для пересування, до факультативних і облігатних паразитів, що розвиваються в кишечнику або порожнині тіла комах. Як профенційні види для біологічного захисту рослин можуть мати значення деякі види з родів *Allantonema* і *Howardula*. Наприклад, *Howardula phyllotretae* Fil.

паразитує в порожнині тіла хрестоцвітої хвилястої блішки. Ступінь заселення в окремих випадках досягає 50%.

Родина Мермітиди – *Mermittidae*. Ниткоподібні нематоди, тіло тонке, до 10–30 мм довжиною і 0,2–0,5 мм у діаметрі. Голова округла, несе сосочкоподібні тангорцептори, хвіст конічний або тупозаокруглений. Поверхня кутикули

гладка, під нею вздовж тіла проходять бокові, спинні і черевні волокна, що перехрещуються. Кишечна порожнина відеутня. Стравохід не має м'язів і являє собою сильно витягнуту в довжину кутікулярну трубку з хітинізованими стінками, розташованими навкруги рядами клітин з великими ядрами. Анальний отвір добре помітний у самців і через нього

назовні висуваються спікули. Яєчники в самок довгі зі світлими верхівками. Інша їх частина темна через накопичення в майбутніх яйцях великої кількості жовтка. Кишковий канал оточений жировим тілом, яке надає нематоді білого

кольору. Поживні речовини з гемолімфи живителя надходять безпосередньо через поверхню тіла, а потім через стінки стравоходу. Зимують різні фази нематод у живителі чи ґрунті залежно від виду. Личинка першого віку (іноді

другого, якщо перша линька відбувається в яйці), яка виходить з яйця,

називається інвазійною, тому що вона повинна проникнути в живителя. У деяких видів інвазійні личинки можуть жити декілька місяців, чекаючи на живителя, живлячись запасами свого тіла. У порожнину тіла комахи проникають крізь шкіряний покрив. Тривалість розвитку личинок у тілі живителя – від місяця до року. Личинки, які закінчили розвиток, линяють і залишають живителя, пробуравлюючи отвір у стінках тіла або виходять через анальний чи ротовий отвори. Нематоди, що вийшли не живлячись, ще раз линяють і збираються в клубки, де перебувають одна самка і декілька самців.

Яйця самки відкладають у ґрунт або на рослини. Плодючість самок коливається від 1 до 6 тис. яєць. Представників родини вивчено слабо через тривалий цикл розвитку і складну діагностику, особливо у фазі личинки. Ці обставини ускладнюють розробку технологій масового розмноження і вивчення кормової спеціалізації, яка в окремих видів досить широка.

Наприклад, *Hexameris albicans* Seib. паразит колорадського жука, непарного шовкопряда, капустяної та деяких інших видів совок. *Mermis longissima* Fedtch. паразит перелітної сарани; *Psammomermis korsakovi* Polosch. і *Psammomermis kulagini* Polosch.

1.4.3. Біологічні особливості ентомопатогенних нематод

Більшість нематод мають простий життєвий цикл. Запліднена самка відкладає яйця і з яйця виходить личинка другого віку. Личинка потребує живлення для перетворення у личинку наступного віку. Більшість нематод є гетеротрофними, тобто для розмноження потребують і самки і самця. Проте зустрічаються види гермафродитні чи партеногенетичні, тобто у розмноженні приймає участь тільки самка[29]. І можуть мати альтернативний гомогенетичний чи партеногенетичний життєвий цикл. Стадія онтогенезу ентомопатогенних нематод, здатна заражати комах, різна

залежно від виду. Інфекційними стадіями є: яйце для класу зеластоматид, другий вік для мермітид та третій для штейнернематид та гетерорабдітид, запліднена самка для алаптонематид, сфарагагід і факкопсігилесхід. В інших класах самка не є інфекційною і вмирає після розмноження[37].

У більшості видів нематод, інвазійною, тобто здатною для зараження господаря, є личинка третього віку. (рис.1). Інвазійні личинки третього віку нематод знаходяться у ґрунті, де і відбувається зараження комахи – живителя[25]. Інфекційні личинки потрапляють у тіло комах через природні отвори. Личинка виділяє у гемолімфу комах бактерії, після чого відбувається їх розмноження та розповсюдження. В результаті комаха – живитель гине внаслідок септицемії. Далі відбувається розвиток самок та самців першого покоління і відкладання яєць [34]. Потім розвивається друге покоління, самки якого відкладають яйця з яких відроджуються ювенільні та інвазійні личинки. Інвазійні личинки мігрують з тіла комах – живителя у навколишнє середовище, де шукають нового живителя[40].

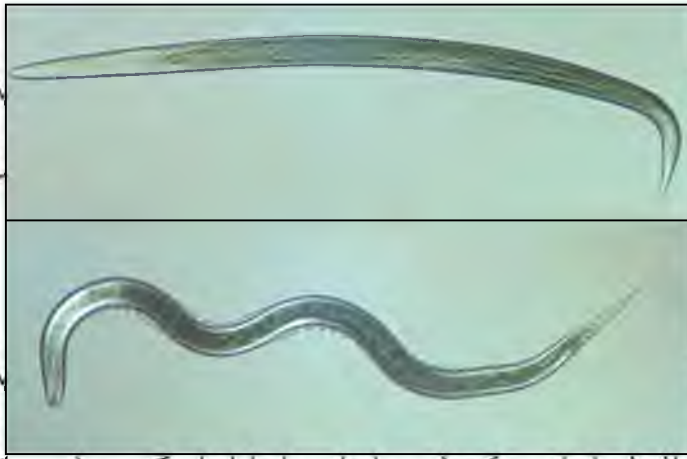


Рис. 1. Інвазійні личинки третього віку нематод *Steinernema carpocapsae* (за Н.Кайа)

1.4.4. Вплив абіотичних факторів на розвиток нематод

Абіотичні фактори, які впливають на поширення нематод наступні:

- Ґрунтова вологість
- Температурні умови ґрунту
- ультрафіолетове опромінення
- структурні особливості ґрунту

Нематоди відносяться до вологолюбивих організмів. Отже вони поширені/поширення в ґрунті, де існують оптимальні умови існування інвазійної стадії нематод, а також можливість переживання несприятливих умов навколишнього середовища. Кількість інвазійних личинок в ґрунті змінюється протягом року, досягаючи максимальної кількості навесні та восени, влітку через підвищення температури кількість личинок зменшується [27]. Пороговими температурами для розвитку нематод є температури і діапазоні від 10-15° С до 30-40° С. Ультрафіолетове опромінення надзвичайно негативно впливає на нематоди, вбиваючи їх за декілька хвилин. Структура ґрунту істотно впливає на розвиток нематод, при цьому чим меншими є пори в ґрунті, тим гірше нематоди можуть поширюватися в ньому [41]. Відомо, що найважливішим фактором, що визначає ефективність їх використання проти шкідників є забезпечення вологістю

грунту. Розвиток нематод також визначається вмістом кисню та складом органічних речовин ґрунту. Водночас рН та засоленість ґрунту не є надто суттєвими для розвитку цих організмів[50]. Нематоди, внесені до ґрунту,

відразу починають активно мігрувати як до поверхні ґрунту, та і в нижчі горизонти, в цілому залишаючись рухомими та здатними до зараження протягом 8 тижнів. Основну кількість мігруючих личинок можна виявити через 2-4 доби на відстані 15см від поверхні ґрунту, потім активність поступово затухає[45].

Найбільш інтенсивно міграція нематод відбувається в присутності комахи-господаря, в цьому випадку через 7 днів після внесення в ґрунт нематоди можуть поширитися в горизонтальному напрямку на відстань до 30 см, долаючи в день до 4 см. Вертикальне поширення нематод в ґрунті в польових умовах є достатньо добре вивченим, популяція *Steinernema carpocapsae* в основному існує на глибині 1-2 см від поверхні ґрунту, а популяція *Heterorhaditis bacteriophora* на глибині 8 см від поверхні ґрунту[48].

Особливості горизонтального поширення нематод в ґрунті суттєво відрізняються в рамках виду, при цьому варіативність поширення виду *H. bacteriophora* є значно більшою у порівнянні з видами *S. carpocapsae* та *Steinernema feltiae*. При одночасному знаходженні в ґрунті декількох видів ентомопатогенних нематод відбувається значна конкуренція між видами за місце локалізації і за комахи-господаря[49]. Слід відзначити, що у випадку, коли в ґрунті знаходяться одночасно два види нематод *Steinernema carpocapsae* та *H. bacteriophora*, перший вид в основному домінує на глибині 5-15 см, а другий - на глибині 25-30 см. Було відмічено різницю в поведінці ентомопатогенних нематод відносно здатності відшукувати комахи-господаря. В природних умовах практично не зафіксовано фактів одночасного зараження комахи-господаря двома різними видами нематод.

У поодиноких випадках, коли цей факт все ж мав місце, в комасі, що загинула, нематоди далі не розвивалися [41]. Агротехнічні прийоми вирощування культури впливає на виживаемість, персистентність та

розповсюдження ентомопатогенних нематод. В зв'язку з тим, що біологія ентомопатогенних нематод тісно пов'язана з ґрунтом, обробіток ґрунту впливає на їх розвиток. Встановлено, що стандартна оранка при вирощуванні кукурудзи негативно впливає на нематод *S. carpocapsae* та *H. bacteriophora*. Цей факт можливо пояснити тим, що ці види нематод мають різні пошукові стратегії господаря. Нематода *S. riobrave* не здатна активно рухатися і пересуватися в більш глибокі шари ґрунту, тому вона не має такої високої чутливості до оранки [47].

Стосовно впливу добрив на ентомопатогенних нематод, немає однорідної інформації і результати досліджень дуже суперечливі. Встановлено, що неорганічні добрива на перший день після внесення збільшують активність ентомопатогенних нематод, але на 10-20 день відбувається пригнічення їх розвитку [49]. *H. bacteriophora* більш чутлива до дії добрив. У польових дослідах використання органічних добрив сприяє збільшенню популяції нематоди *S. feltiae*, хоча внесення NPK негативно впливає на розмноження та розвиток нематод [46].

1.4.5. Особливості поведінки ентомопатогенних нематод.

Найбільш важливим фактором, що лімітує ефективність зараження ентомопатогенних нематод комахами-господарями є особливість поведінки інфекційних личинок під час пошуку комах-господаря. У цілому виділяють два види поведінки нематод під час пошуку комах-господаря, відомих як поведінка амбушерів і поведінка круїзерів. Для перших основна стратегія полягає в очікуванні комах-господаря, перебуваючи на місці. Другий вид поведінки характеризується постійним пересуванням й активним пошуком комах-господаря.

У реальних умовах для більшості нематод, у першу чергу, з видів *S. riobrave* та *S. feltiae*, характерним є проміжний варіант поведінки, що дозволяє їм заражувати комах, які знаходяться у верхніх шарах ґрунту. До останніх, в першу чергу, відносять личинки лускокрилих сциаридових комариків і довгоносиків. Перший тип поведінки амбушерів, що можна

охарактеризувати як «сиджу та очікую», є властивим для видів *S. carpocapsae* та *S. scapterisci*. Цій стратегії притаманна низка рухова активність нематод і їх знаходження здебільшого на поверхні ґрунту. Цей вид нематод заражає здебільшого комах-господарів, які є мобільними та перебувають на поверхні ґрунту.

До комах із такими властивостями відносять, в першу чергу, яблуневу плодожерку, совку, вовчка. Представниками другої пошукової стратегії поведінки є так звані «крузери», до яких належать нематоди видів *S. glaseri* та *H. bacteriophora*, що характеризуються значною рухливістю і активним пересуванням уздовж профілю ґрунту.

Здебільшого ці рухомі нематоди заражають комах-господарів, яким притаманний сидячий спосіб життя. До комах із такими властивостями відносять личинки пластинчастовусих, предлялечки та лялечки лускокрилих. Іншою значною особливістю поведінки інфекційних личинок є коливання їх тіла, при якому до 30-95% тіла личинки має здатність підніматися над субстратом на декілька секунд.

Описане явище носить назву «ніктація». Багато які нематоди, що належать до першого типу поведінки «амбушерів» або до проміжного типу поведінки, можуть підніматися навіть на 95% свого тіла і більше, а інколи навіть опиратися на хвіст. Нематоди другого виду поведінки, так звані «крузери»,

також мають здатність коливатися, проте не можуть при цьому ставати на хвіст. З іншого боку, інфекційні личинки, які не мають здатності коливатися та ставати на хвіст, мають здатність скакати. Ця особливість використовується для того, щоб якимось чином прикріпитися до комахи-господаря, і далі поширюватися вглиб тіла комахи

1.4.6. Симбіотичні відносини ентомопатогенних нематод з бактеріями

Про наявність симбіотичних відносин між ентомогенними нематодами та бактеріями було заявлено ще в 30-х роках 20 століття, задовго до встановлення потенційної можливості застосування нематод як агентів біологічної боротьби зі шкідниками сільськогосподарських культур. Досить широкий спектр комах-господарів нематод пояснюється високо патогенними властивостями симбіотичних бактерій, розмноження яких призводить до

швидкої загибелі комах. За рахунок цього нематодам не потрібно долати захисні реакції та пристосовуватися до життєвого циклу комах. Висока вирулентність нематодобактеріального комплексу проти комах-шкідника є основою використання ентомопатогенних нематод як можливих агентів у біологічних методах боротьби зі шкідниками бактерій

Досить широкий спектр комах-господарів нематод пояснюється високо патогенними властивостями симбіотичних бактерій, розмноження яких призводить до швидкої загибелі комах. За рахунок цього нематодам не потрібно долати захисні реакції та пристосовуватися до життєвого циклу

комах. Висока вирулентність нематодобактеріального комплексу проти комах-шкідника є основою використання ентомопатогенних нематод як можливих агентів в біологічних методах боротьби зі шкідниками бактерій [30]. Бактерії *Xenorhabdus* та *Photorhabdus* є грампозитивними, факультативними, спороутворюючими анаеробними бактеріями, що належать до родини *Enterobacteriaceae*. В цілому в родині *Xenorhabdus* існує дев'ять видів бактерій, що асоціюються з нематодами роду *Steinernema*, а в родині *Photorhabdus* три види бактерій, що асоціюються з нематодами роду *Heterorhabditis*. Основною відмінністю між указаними видами бактерій є їх

здатність утворювати люмінесцентне світіння та наявність позитивного каталізу. Бактерії родини *Photorhabdus* утворюють люмінесцентне світіння та мають позитивний катализ, а *Xenorhabdus* не мають цих властивостей

Відомо, що для нематод родини *Steinernematidae* характерною є асоціація з бактерією виду *Xenorhabdus*, для нематод родини *Heterorhabditidae* – з бактерією виду *Photorhabdus* [31]. В результаті зараження бактеріями комахи гинуть від септицемії, а інфекційні личинки нематод харчуються вмістом тіла комах, що загинула [32].

Зв'язок ентомопатогенних нематод та бактерій є взаємовигідним. Нематоди потрібні бактеріям, щоб останні мали можливість проникати до гемолімфи комах. Розпліджуючись в гемолімфі і розкладаючи тканини комах-господаря до продуктів, які легко засвоюються нематодами, бактерії,

в свою чергу, допомагають репродукції нематод і пришвидшують загибель комах [36].

1.4.7. Взаємовідносини ентомопатогенних нематод з комахами, що є їхніми господарями

З метою збільшення ефективності застосування ентомопатогенних нематод необхідно володіти інформацією про комах-господарей, яких вони можуть заразити в лабораторних умовах, в польових умовах при використанні методу сезонної колонізації чи у природних умовах [26].

Здебільшого нематод в лабораторних умовах ведуть себе, як багатодні паразити. В цих умовах ентомопатогенні нематоди заражують досить широкий спектр комах-господарів в усіх фазах їх розвитку, крім яйця, що пояснюється безпосереднім контактом нематод з комахою-господарем, оптимальними екологічними умовами та відсутністю бар'єрів поведінки для виникнення інфекції.

Нематоди виду *S. carpocapsae* заражують в лабораторних умовах приблизно 250 видів комах, які належать до 75 родин та 11 рядів [38]. Проте в природних та польових умовах кількість комах-господарів, які можуть бути заражені нематодами, є значно нижчою.

Встановлено природних господарів для 9 з 17 визначених представників роду *Steinernema carpocapsae* та 3 з 6 представників роду *Heterorhabditis* [39].

Внаслідок того, що нематоди адаптовані до умов ґрунтового середовища, їх основними господарями в природних умовах є комахи, що мешкають у ґрунті. В основному виділення нематод з ґрунту здійснюється за допомогою личинок вощаної молі *Galleria mellonella* L [42].

Спектр господарів ентомопатогенних нематод досить широкого представлено лускокрилими комахами. *S. carpocapsae* не заражує твердокрилих шкідників в природних умовах, тоді як нематоди виду

Steinernema feltiae крім *Lepidoptera* (здебільшого *Noctuidae*), в природних умовах заражує твердокрилих комах (листинчастовусі жуки, довгоносики) і навіть двокрилих [44]. Нематода *Heterorhabditis bacteriophora* теж відноситься до багатодних паразитів і заражує представників лускокрилих

(Noctuidae) та твердокрилих (листоїд, пластинчастовусі, довгоносики) комах. Існують види нематод, яким властива видоспецифічність, наприклад, цієї властивістю володіють нематоди *S. kurshidai* та *S. scarabei*, які в природних умовах заражують личинки хрущів. Нематоди виду *Steinernema scapterisci* заражують лише капустянку[43].

Препарати на основі ентопатогенних нематод, рекомендовані для використання проти довгоносиків

Такий препарат називається немабакт. Немабакт – це симбіоз хижої нематоди і бактерії, яка проникає всередину личинки комах, буквально виїдає її

зсередини, після чого залишає порожню оболонку. Після потрапляння в ґрунт личинки нематод за відсутності комах-господаря інактивуються. Таким чином, нематоди без харчування можуть існувати більше двох років. Коли поруч з'являється комаха, личинки активізуються, впроваджуються в тіло

комах. Після проникнення в комаху нематоди випускають у гемолімфу господаря симбіотичні бактерії. У результаті інтенсивного розмноження бактерій і пошкодження внутрішніх органів нематодами, комаха гине через 1–3 доби. Усередині комах відбувається розмноження і ріст нематод, після

чого протягом 8–15 діб з тіла комах виходять тисячі нових інвазійних личинок, здатних до зараження. Транспортування важливий момент –

температура повинна бути в межах 2–25 °С. Якщо температура вище або нижче потрібна сумкахолодильник. Головне завдання – рівномірно пролити

препарат по оброблюваній ділянці. Нематода проникне в личинку комах, а бактерія знищить усі нутрощі. Після доставки препарату на ділянку, її

кладуть у затінок для акліматизації. Витримка препарату становить від 2 до 4 години (рекомендується 8 годин). Потім препарат заливають водою.

Температура води повинна бути такою ж як і температура навколишнього середовища. Для того, щоб нематоди виплили і осіли на дні ємності, очікують

1,0–1,5 годин. Пролівають ґрунт увечері та в сиру погоду. Якщо погодні умови посушливі, то землю проливають водою і зволожують. 0,5 л води з нематодами розмішують з 10 л чистої води і обробляють до 5 м². Потім знову

проливають ділянку водою для змивання залишків нематод з листя і стебел.

Через тріщини в ґрунті нематоди йдуть углиб, і починають полювання на личинок комах. Після внесення немабакту через 15-30 хв. ґрунт слід додатково зволожити (наприклад, рясно полити водою). Це полегшує проникнення нематоди вглиб ґрунту.

У закритому ґрунті ефективно діє проти: каліфорнійського і квіткового трипса, капустяної мухи, грибоного комарика, цвіркунів та довгоносиків. У відкритому ґрунті застосовується проти: смородинної склівки, брунькової молі, дротяників, обліпихової та капустяної мух, листовійки, плодожерки,

травневого хруща, дротяників, капустянки, колорадського жука, короїдів.

Ентонем-Е – концентрат живих нематод *Steinernema feltiae* (Filipjev), що паразитують на широкому спектрі садових шкідників, враховуючи їх активних личинок і кладки яєць. Тривало зберігаючись у ґрунті, нематоди

уражують шкідників повністю, показуючи результати викорінюючої дезінсекції. Препарат відносять до класу кишкових пестицидів, безпечних для людини (4-й клас токсичності). Препарат випускають у рідкій емульсійній формі, що містить 5 млн нематод в 1 м препарату. Тривалість дії

біоматеріалу на шкідників – 2 роки і більше. Засіб показує селективну

вибірковість отруйної активності, залишаючи неушкодженими корисні види членистоногій ентомофауни. Ентонем-Е поступово ліквідує: капустяну, грибку та обліпихову мух, смородинну склівку, квіткових трипсів, дротяників, колорадського жука та борознистого скосаря. Препарат на основі

живої культури нематод – хижих організмів, що уражають шкідників у циклі активного паразитування в тілі комах, у його личинках та інших біологічних похідних. Завдяки своєму винятково органічному походженню, препарат не забруднює навколишнє середовище в зоні внесення. Нематоди зберігають

життєздатність у ґрунті близько двох років, стаючи грізним біологічним

захистом на ділянці. Досить одного внесення Ентонема-Е у ґрунт за сезон, щоб запустити роботу нематод. Ентонем-Е використовують у розчинах заводського концентрату з водою, де визначальне значення має не об'єм

робочої рідини, а достатня кількість нематод на рослину або 1 м². Так на 1 одиницю капустяної розсади потрібно близько 125 тис. організмів (полив, або обприскування). Картопляний кущ обробляють поверхнево з орієнтовною витратою не менше 80 тис. нематод, а під час поливу від дротяників витрачають 5 млрд нематод на 1 га ріллі (близько 800 л робочого розчину).

Для підмішування в ґрунт і лікування квіткових живців використовують вологий пісок, у якому створюють концентрацію препарату 200–300 діючих одиниць на 1 см³ піщаної фракції. Орієнтовно 5–10 млрд органічних агентів вносять на гектар ґрунту під декоративні насадження. Для обприскування

ґрунту (поверхнєве внесення) стартова концентрація агента становить 125 тис. одиниць на 1000 м².

Препарати на основі ентомопатогенних нематод виробляють 13 світових компаній та за обсягами використання вони поступаються тільки мікробіологічним пестицидам на основі бактерії *B. thuringiensis*. Зокрема, німецька компанія «E-nema» - один з головних виробників препаратів на основі ЕПН у Європі за сучасними технологіями *in-vitro*. Компанія пропонує 8 препаратів проти підгризаючих совок, хрущів, борозенчастого скосаря, огіркового та грибкового комариків та капустянки звичайної.

Мета досліджень: встановити наскільки ентомопатогенні нематоли можуть бути ефективним способом захисту суниці від борозенчастого скосаря

Предмет досліджень: ентомопатогенні нематоли *H. bacteriophora*

Об'єкт досліджень: борозенчастий скосар та його личинки

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

1.1. Методика вивчення циклу розвитку ентомопатогенних нематод

Вивчали смертність личинок довгоносика борошенчатого скосаря (відсоток личинок, які загинули від нематодної інфекції) та репродуктивний потенціал цих комах. Нематода *H. bacteriophora* була виділена з ґрунту плодового саду Центрального Лісостепу України та визначена за допомогою ДНК-технологій в університеті Каліфорнія (Ріверсайд), а інфекційні личинки зазначених видів ЕПН для вивчення смертності та репродукційного потенціалу розмножували на гусені *Galeria melonella* в лабораторії при температурі 25 °С і вологості 86 %. Для експерименту використовували свіжий матеріал нематод, які виходили з личинок галерії протягом 10 днів.

1.2. Виділення ентомопатогенних нематод з ґрунту та розмноження

нематод в комах господаря

Проби ґрунту відбирали з глибини 10 см. Кожний зразок складався з п'яти рендомінізовано відібраних проб. Кожна проба мала 50 см². Загальну пробу 250г переносили у пластиковий контейнер, куди незабаром вносили 5-10 личинок вошної молі *G. mellonella*. Для дослідів використовували личинки вошної молі *G. melonella* 5-6-го віку з масою тіла 100-150 мг та борошняного хрущака 6-8-го віку з масою тіла 80-100 мг. Контейнери зберігалися 5 днів при температурі 20-25°C. На шосту добу гусениць Галерії переносили у звичайну чашку Петрі на фільтрувальний папір. Інвазійні личинки збиралися протягом 10 днів за допомогою пасток Вайта. Виділення ентомопатогенних нематод з комах за допомогою пасток Вайта

Для того щоб виділити ентомопатогенні нематоди з тіла *G. mellonella* ми робили збір інфекційних личинок за допомогою пасток Вайта (рис.2)

Мертві комахи переносились у маленькі чашки Петрі, на дні якої знаходився зволожений фільтрувальний папір. Маленька чашка Петрі

встановлювалась у більш велику 100x15 мм чашку Петрі з водою (Рис.2).

Інфекційні личинки мігрували з мертвих комах спочатку у маленьку чашку Петрі, а потім у воду, яка була у великій чашці Петрі. Фільтрувальний папір мав бути зволожений, але не мокрий. Комахи, що загинули від *Steinernema carpocapsae* переносились у пастку через 3-6 днів після зараження.

Інфекційні личинки, що потрапили у воду збирали щоденно. Збирались вони таким чином: переливали суспензію нематод та залишали на 15-20 хвилини, для того, щоб вони осіли на дно. Воду в мензурі міняли тричі. Інфекційні личинки збирали протягом декількох днів. Зберігали нематоди у флаконі для

культури тканин при $t = 15^{\circ}\text{C}$.



Рисунок 2. Виділення ентомопатогенних нематод за допомогою пасток

Вайта

Трупні комах переносяться у маленькі чашки Петрі в дні якої знаходиться зволожений фільтрований папір.

Маленька чашка Петрі вставляється у більш велику 100*15 мм. Чашку

Петрі з водою. Інфекційні личинки мігрують з трупів комах спочатку у маленьку чашку Петрі, а потім у воду, яка знаходиться у великій чашці Петрі.

Фільтрований папір має бути зволожений, але не мокрий. Звичайно комах що загинули від штейнернематод переносять у пастку через 3-6 днів

після зараження, а комахи, що загинули від гетерорабдитид через 6-11 днів після зараження.

Інфекційні личинки, що потрапили у воду, треба збирати щоденно.

Збирають личинок таким чином: переливають суспензію нематод та залишають на 15-20 хвилин, для того, щоб вони осіли на дні. Воду у мензурі

мінють тричі. Це робиться для того, щоб нематоли відфільтрувалися, та ІЛ кожного разу осідають на дно (не хвилюйтеся про нематод яких ви втрачаєте:

зазвичай великі комахи продукують від 30 000 до 100 000 та більше інфекційних личинок). Воду виливають з циліндра для того, щоб позбавитися

від першої порції води в якій знаходяться симбіотичні бактерії, тканини комах та інші мікроорганізми. Інфекційні личинки збираються протягом декількох днів. Інфекційні личинки треба зберігати у концентраті 1000-2000/

1 мл. Краще всього зберігати, наприклад у флаконі для культурних тканин, неглибокому посуді забезпечуючи належний обмін кисню. Немає потреби

щільно закручувати пробку на флаконі, щоб дати доступ кисню. Зберігають нематод при $t 15^{\circ} C$. Якщо продувати повітря у суспензію нематод, то їх не обов'язково зберігати у неглибокому шарі води. Для проведення дослідів

краще всього використовувати нематод які були зібрані не пізніше ніж один місяць.

Визначення життєздатності личинок.

Найчастіше інфекційні личинки роду *Steinernema* зберігають життєдіяльність протягом 6 місяців при $t 15^{\circ} C$. Окремі ІЛ можуть зберігати життєдіяльність

протягом року. Щодо роду *Heterorabditis*, то інфекційні личинки зберігають життєздатність протягом 3 місяців. Іноді представники роду *Heterorabditis*

утворюють так звані „розетки”. Позбавитися розеток можливо при додаванні у суспензію нематод кількох крапель розчину соди (1г. NaH_2CO_3) 50мл. води.

Інфекційні личинки, які щойно з'явилися з трупів комах більш активні ніж світлонепроникаємі личинки, які з'являються раніше. Завдяки світло

непроникаючим інфекційним личинкам нового покоління забезпечується достатня кількість жиру. Під час зберігання ІЛ кількість жирів поступово

зменшується, транспірація інфекційних личинок збільшується і вони стають менш активними.

Зберігання при високих температурах посилює процес „старіння” личинок.

1.3. Лабораторне розведення ентомопатогенних нематод

Нематоди розмножували в лабораторних умовах на личинках *G. mellonella*. Приготування штучного поживного середовища проводили з

розрахунку на 1 кг. До його складу входили такі компоненти: мерва, висівки

пшеничні, борошно пшеничне, борошно кукурудзяне, сухі пекарські дріжджі, мед, сухе молоко, гліцерин, цукор. Мерву перед використанням необхідно було прогріти протягом 1-2 годин при температурі +80°C. Після

охолодження мерву перемішували з сухими компонентами, а мед, цукор та

гліцерин розчиняли у теплій воді і додавали до сухої суміші. Таке поживне

середовище можна зберігати в холодильнику в целофані. Перед

використанням середовище подрібнювали. Для лабораторного розведення

вощаної молі, свіжо відкладені яйця по 1000 штук поміщали в літрові

контейнери та додавали по 200 г (тобто по 2 г/особину) поживного

середовища. Контейнери накривали марлею та поміщували на

інкубацію при температурі +26+28°C. Гусениці вироджувалися через 8-12

днів. Коли гусинь переходила в третій вік, її треба було перемістити в більші

ємності (садки діаметром 30 см, висотою 10 см) та додати ще по 200 г

поживного середовища. Ще через тиждень середовище додавали до

повної норми (1 кг) і гусениці залишали на залялькування. Тривалість

живлення гусениць в садках в середньому становила 21-28 днів. Через 13-

14 діб після залялькування виходили метелики, яких необхідно було

пересаджувати по мірі їх виходу в контейнери ємністю 3 л по 50 екз. в кожному

(25 самиць, 25 самців). Контейнери накривали кришками з отворами для

аерації, в які розташовували фільтрувальний папір з отворами для

відкладання яєць самками. Збирати яйця треба було щодня, замінюючи фільтрувальний папір на новий. Тривалість розвитку одного покоління вошаної молі в середньому становила 49 днів (від 41 до 52). Отже за рік в лабораторних умовах може розвиватись від 7 до 8,5 поколінь галерії.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Репродуктивний потенціал личинок борозенчастого скосаря для розвитку нематод

Життєздатність личинок зазвичай залежить від їхньої довжини. Довгі личинки дуже активні і приймають форму бублика. Короткі личинки ніколи не приймають форму бублику у воді, але можуть мати вигляд латинської літери „N”. Але треба пам’ятати що іноді і мертві личинки можуть мати таку форму, тобто треба перевірити чи вони живі, крім того живі личинки іноді мають невеличкі зони транспірації у передній та задній частині тіла. Загалом, мертві нематоди випрямлені вигляді голки та однаково затемнені. Однак завжди треба перевірити нематод, а особливо дрібні види та встановити живі вони, чи ні. Найчастіше всього нематоди починають рухатись при доторканні до них голочкою, і це є найточнішою ознакою того, що нематоди живі

Встановлено, що щільність нематод впливала на ефективність їх зараження та розвиток у личинках борозенчастого скосаря. Оптимальною для зараження була доза від 50 та 100 нематод на одну личинку-господаря.

При використанні дози менше ніж 20 личинок на одну комаху, період загибелі нематод тривав 7 днів. Личинки вошинної молі при застосуванні 50 нематод на одну личинку гинули від зараження двома видами БІН швидше (через 32-36 год.), ніж борошняного хрущака (48 год.). Личинки борошняного хрущака та вошинної молі, що загинули від *H. bacteriophora*, мали типове коричнево-червоне забарвлення (рис.1)

Репродуктивний потенціал визначали за такими показниками: кількість комах вошинної молі та борошняного хрущака, в яких нематоди закінчили розвиток та сформували статеве покоління; загальна кількість нематод, що вийшли з однієї комах; загальний вихід нематод у перерахунку на 1 г маси комах. Середній вихід нематод *H. bacteriophora* з однієї личинки галерії борозенчастого скосаря становив 158,3 тис. Інфекційних личинок.

Вихід інфекційних личинок з тіла вошинної молі, зараженої *S. carpocapsae*, який починався на 9-й день після загибелі комахи, в середньому тривав 10 днів. Інфекційні личинки нематод починали виходити з тіла

личинок вошинної молі, зараженої *H. Bacteriophora*, на 7-й день після її загибелі й продовжували протягом 12 днів. Найбільшу чисельність личинок

нематод *H. bacteriophora*, які вийшли з мертвої вошинної молі, спостерігали на 4-5-й день після початку виходу. Ранній вихід личинок нематод *H. bacteriophora* пояснюється особливостями їх розвитку, зокрема здатністю до

гермафродитизму. Дуже часто термін виходу інфекційних нематод залежить

від розміру комахи-господаря. Таким чином, борошняний хрущак є достатньо придатним господарем для розміщення нематод *Steinernema carpocapsae*.

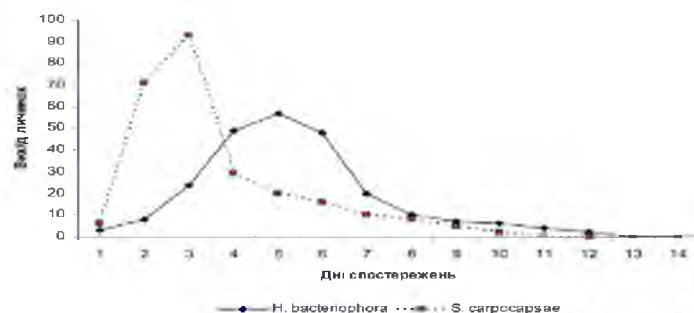


Рис.3. Динаміки виходу інфекційних личинок нематоди гетерорабдітис із личинок борозенчастого скосаря

3.2. Біологічні особливості *H. bacteriophora* на личинках борозенчастого скосаря

Життєвий цикл нематоди з личинок 4 віків та дорослої особини. Всі стадії, за винятком личинки третього віку, знаходяться всередині господаря. Інфекційні личинки нематоди *H. bacteriophora* потрапляли в тіло личинок господаря через ротовий отвір або дихальні отвори. Після проникнення вони випускають з свого кишківника у гемолімфу комахи

симбіотичної бактерії роду *Photobabds*. Внаслідок зараження бактеріями личинки довгоносіка швидко гинуть - через 48-72 години. Згодом нематоди перетворюються на личинку 4 віку і врешті на дорослу особину.

Характерною ознакою зараження *N. bacteriophora* було те, що личинки борозенчастого скосяра мала люмінісцентне забарвлення та поступово набувала червонне забарвлення. Згодом від трупа комахи лишалася лише кутикула, і згодом з нього виходять інфекційні личинки 3 віку, здатні заражувати нових комах

Проникнення *N* в тіло личинки борозенчастого скосяра

Виділення бактерій. Смерть личинок борозенчастого скосяра 1-2 день

Розвиток першого гермафродитного покоління 3-7 день

Поява статевих особин другого покоління та початок статевого розмноження 8-10 день

Вихід інфекційних личинок нового покоління личинок 11-16 день

Рис. Цикл розвитку *N. bacteriophora* на борозенчастому скосярі

3.4. Вплив використання ентомопатогенних нематод на смертність борозенчастого скосаря

Смертність личинок борозенчастого скосаря залежала від дози зараження ентомопатогенною нематодою *H.bacteriophora*. Максимальна смертність личинок довгоносика від *H.bacteriophora* становила 89%. Встановлено вплив різних доз зараження нематодою (10, 20, 50, 100 інфекційних личинок) на смертність личинок борозенчастого скосаря. Найоптимальнішою для зараження виявилась доза 50 ІЛ/особину (табл. 1.)

Таблиця 1. Вплив ентомопатогенної нематоди *H. bacteriophora* на репродуктивний потенціал та репродуктивний потенціал

Доза нематод ІЛ/особину	Смертність личинок %	Репродукційний потенціал %
Контроль	0,7a*	0a
10	24 b	18b
20	76.2c	24c
50	89d	67в
100	79 c	50в

Різні букви біля цифр показують наявність достовірних відмін між середніми

Репродуктивний потенціал для розмноження ЕПН був 76%. Маса загиблих личинок не впливала на сумарний вихід личинок нематод. Було також встановлено, що *H.bacteriophora* також заражує інші фази борозенчастого скосаря, але личинки є найуразливішим матеріалом до ураження патогеном.

Вивчення циклу розвитку *H.bacteriophora* в личинках борозенчастого скосаря показало його цілковиту придатність як комахи-господаря нематоди.

НУБІП України

Висновки

1. Ентомопатогенні нематода *H. bacteriophora* – ефективний паразити борозенчастого скосяря

2. В процесі паразитизму ентомопатогенні нематоли призволять до 96% смертність личинок довгоносика останнього віку від нематод. Смертність корелює з дозою нематод і зростає із її збільшенням.

3. Репродукційний потенціал борозенчастого скосяря складає 76%

2. Цикл розвитку *H. bacteriophora* в личниках борозенчастого скосяря в лабораторних умовах за температури 25 С завершується через 11-15 днів

3. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення біологічної ефективності ентомопатогенних нематод проти борозенчастого довгоносика в польових умовах та теплицях. Необхідним завданням також є розробка ефективних технологій лабораторного та промислового розмноження ЕПН.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

Список використаної літератури

1. Лисанюк, В.Г. Суниця. – Київ: «Вища шк.», 1990. – 152 с.
2. Никиточкіна, Т.Д. Суниця, полуниця: посібник для садоводолюбителів / Т.Д. Никиточкіна, Д.Н. Никиточкін. – М.: Ниола-Пресс Видавн., 2007.
3. В. С. Марковський, А. Г. Гуляєв, В. П. Лошицький та ін Довідник по ягідництву. – К.: Урожай, 1989. – 224 с.
4. Дрозд О. О. Прибутковість суниць в тунелях. Новини садівництва. – 2006. – № 1. – С. 33. 27
5. Дрозд О. О. Суниця на півці. Новини садівництва. – 2007. – № 2. – С. 20–21.
6. Дрозд О. О. Ягідницьке господарство в Шотландії О. Новини садівництва. – 2007. – № 1. – С. 36–38.
7. Копань К. М. Суниця: кращі сорти та технологія для присадибного і фермерського господарства / Дім, сад, город. – 2002. – № 9. – С. 42–45. 44.
8. Копитко П. Г. Удобрення плодкових і ягідних культур. – К.: Вища школа, 2001. – 206 с.
9. Лапа О. М. Технологія вирощування та захисту ягідних культур. – К. – 2006. – 100 с. 59.
10. Лапа С. В. Біопрепарат для захисту суниць від сірої гнилі. Проблеми адаптації та перспективи розвитку ягідництва: тези доп. і виступів на всеукр. наук. конф. молодих вчених і спеціалістів. – К., 2008. – С. 100–104. 60.
11. Лисанюк В. Г. Нові технології вирощування суниць. Новини садівництва. – 1994. – № 3. – С. 1–6.
12. Гуменюк Ю. Основні хвороби та шкідники суниць. Агробізнес сьогодні. – 2021. – №21(460). – С.22-23.
13. Яновский, Ю. П., Ящук, В. У., & Чепернатий, Є. В. (2015). Видовий склад шкідників у промислових насадженнях суниці в Центральному Лісостепу України. *Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва*, (87 (1)), 202-208.
14. Кава, Л. П. (2012). Шкідлива фауна суниці в умовах Центрального Лісостепу. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер.: Лісівництво та декоративне садівництво*, (171 (3)), 137-140.

15. Кава, Л. П., & Лікар, Я. О. (2012). Малиново-суничний довгоносик. Заходи обмеження чисельності *Anthonomus rubi* Hrbst. *Карантин і захист рослин*, (11), 16-18.

16. Кава, Л. П. (2013). Видовий склад фітофагів суниці в умовах центрального Лісостепу. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер.: Агрономія*, (183 (1)), 106-109.

17. Попроцька, В. М., Мостов'як, С. М., & Мостов'як, І. І. (2021). Економічна оцінка вирощування суниці садової за різних систем захисту рослин у Правобережному Лісостепу України. *Збалансоване природокористування*, (4), 107-116.

18. Коханець, О. М. (1998). Боротьба з шкідниками суниці. *Садівництво: міжвід. темат. наук. зб.*, (47), 133-137.

19. Teulier, L., Puijalon, S., Boisselet, C., & Piola, F. (2022). The clone wars: the Japanese knotweed (*Fallopia japonica*) vs the black vine weevil (*Otiorhynchus sulcatus*), characterization of a potential herbivory. *bioRxiv*, 2022-09.

20. Lykouressis, D. P., Perdakis, D. C., & Drillias, A. G. (2004). Temporal dynamics of *Otiorhynchus schlaeflini* (Coleoptera: Curculionidae) adults and damage assessment on two wine grape cultivars. *Journal of economic entomology*, 97(1), 59-66.

21. Kepenekci, I., Gokce, A., & Gaugler, R. (2004). Virulence of three species of entomopathogenic nematodes to the chestnut weevil, *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae). *Nematropica*, 199-204.

22. Reding, M. E., Klein, M. G., Brazee, R. D., & Krause, C. R. (2003). Research on Black Vine Weevil and White Grubs in Ornamental Nurseries in Ohio by USDA-ARS. *Ornamental Plants*, 89.

23. Lola-Luz, T. (2005). *Low Chemical Control of Pest and Pathogen Populations in Irish Strawberries, with Emphasis on the Aetiology and Control of Black Wine Weevil Otiorhynchus Sulcatus Fabricius (Coleoptera: Curculionidae) Attack* (Doctoral dissertation, National University of Ireland, Maynooth).

24. Doss, R. P., Shanks Jr, C. H., Sjulín, T. M., & Garth, J. K. L. (1991). Evaluation of some *Fragaria chiloensis* x (*F. X ananassa*) seedlings for resistance to black vine weevil. *Scientia horticultrae*, 48(3-4), 233-239.

25. Hirsch, J., & Reineke, A. (2014). Efficiency of commercial entomopathogenic fungal species against different members of the genus

Otiorhynchus (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory and semi-field conditions. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 121(5), 211-218.

26. Klingen, I., Westrum, K., & Meyling, N. V. (2015). Effect of Norwegian entomopathogenic fungal isolates against *Otiorhynchus sulcatus* larvae at low temperatures and persistence in strawberry rhizospheres. *Biological control*, 81, 1-7.
27. Parikka, P., Tuovinen, T., & Lemmetty, A. (2014, August). Challenges for plant protection of berry crops in northern Europe. In *XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014): II 1117* (pp. 95-102).
28. Стефановська Т.Р., Шелестова В.С. Перспективи використання ентомопатогенних нематод для інтегрованого захисту рослин в Україні // *Захист рослин*. – 2002. – №1. – С.16-20.
29. Стефановська Т.Р., Коханець Л.М. Біологічні особливості розвитку ентомопатогенних нематод (*Steinernema carpocapsae* та *Heterorhabditis bacteriophora*) на личинках борозенчатого сюзаря *Otiorhynchus sulcatus* // *Агроекологічний журнал. Спеціальний випуск, червень*. – 2008. – С.19-22.
30. Akhurst R.J. and N. E. Boemare N.E. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus* // Boca Raton, FL: CRC Press. – 1990. – Pp. 75-90
31. Boemare N. 2002. Biology, taxonomy, and systematic of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* // Wallingford, UK: CABI Publishing. – 2002. – Pp. 35-56.
32. Bains W. *Biotechnology* // Oxford University Press. – 1993. – Pp. 228.
33. Blinova S.L. and Ivanova E. S. Culturing the nematode – bacterial complex of *Neoplectana carpocapsae* in insects // Amerind Publition, New Delhi. – 1987. – Pp. 13-21.
34. Burnell A. M. and B. C. A. Dowds. The genetic improvement of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria: phenotypic targets, genetic limitations and an assessment of possible hazards // *Biocontrol Sci. Technol.* – 1996. – №6. – Pp. 435-447.
35. Burnell A. M. and S. P. Stock. 2000. *Heterorhabditis, Steinernema* and Smart G.C. Entomopathogenic Nematodes for the Biological control of Insects // *Journal of Nematology*. - Vol.27. - N 4S. - 1995. - Pp.529-534.
36. Campbell J. F. and E. E. Lewis. Entomopathogenic nematode host-search strategies. // Wallingford, UK: CABI Publishing. – 2002. – Pp. 13-38.

37. Dutky S. R., Thompson J. V. and Cantwell Y.E. A technique of the mass propagation of the DD// 136 nematode journal of Insect Pathology. – 1964. – Pp. 417-422.
38. De Ley P., and Blaxter. 2002. Systemic position and phylogeny. // The biologic of nematodes. Taylor and Fransis. New York. – 2002. - Pp.1-30.
39. Forst S. and D. Clarke. Bacteria-nematode symbiosis //Wallingford, UK: CABI Publishing. – 2002. - Pp. 57-77.
40. Friedman M. J. Commercial production and development // CRC Press, Boca Raton, Florida. – 1990. – Pp. 153-172.
41. Gaugler R., A. Bednarek and J. F. Campbell. Ultraviolet inactivation of heterorhabditid and steinernematid nematodes //J. Invertebr. Pathol. – 1992. - №59. – Pp. 155-160.
42. Georgis R. and Poinar G. O. Nematodes as bioinsecticides in turf and ornamentals // Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. – 1994. – Pp. 477-489.
43. Glazer I., Lewis E.E. Bioassays for Entomopathogenic Nematodes // Bioassays of Entomopathogenic Microbs and Nematodes CAB (eds A. Navon and K.R.S. Ascher.). CAB International. – 2002. – Pp. 25.
44. Griffin C. T. Temperature responses of entomopathogenic nematodes: implications for the success of biological control programmes // Wallingford, UK: CABI Publishing. – 1993. - Pp.115-126.
45. Kaya H.K., Aguillera M.M., Alumai A., Choo H. Yul., de la Torre M., Fodor A., Ganguly S., Hazir Selcuk H., Tamaas Lakatos, Albert Pye, Michael Wilson, Satoshi Yamanaka, Huaiwan Yang, R. U. Ehlers. Status entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries of the world //Biologica control – 2006 - №38. – Pp 134-155
46. Kaya H.K. Low susceptibility of the honey bee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apilae) to the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* Weiser //Environmental Entomology. – vol. 11. – N4. - 1982. - P. 920-924.
47. Kaya H.K. Suppression of the codling moth (*Lepidoptera: Olethreutidae*) with the entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* (*Rhabditida:Steinernatidae*)// J.Ecol. Entomol. - volime 77. - N5. - 1984. - Pp.1240-1244.
48. Kermarrec A. Etude des relations synecologiques entre les nematodes et la formiliere: *Acromyrmex octospinosus* Ketch // Ann.Zool.Ecol.Anim. - v. 7. - N1. – 1975. - Pp.27-44.

49. Lewis E. E. Behavioural ecology. //Wallingford, UK: CABIPublishing. – 2002. – Pp. 205-223.

50. Lewis E.E., Gaugler R., Harrison R. (1992). Entomopathogenic nematodes host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers //Parasitology. – 1992. - №110. – Pp.583-590.

51. Lewis E.E., Grewal P.S.,Gaugler R. A conservation approach to using entomopathogenic nematodes in turf and landscapes //Barbosa, P. (Ed)., Conservation Biological Control Academic Press, New York, NY. – 1998. - Pp.235-254.

52. Millar Leah C, Barbercheck Mary E.2002. Effects of tillage practices on entomopathogenic nematodes in a corn agroecosystem //Biocontrol. – 2002. - №25. – Pp.1-11.

53. Parkman J. P. and Smart G. C. Entomopathogenic nematodes, a case study introduction of *Steinernema scapterisci* in Florida // Biocontrol Science and Technology, Florida. – 1996. – Pp.413-419.

54. Patel M. N., and D. J. Wright. The influence of neuroactive pesticides on the behaviour of entomopathogenic nematodes //J. Helminthol. – 1996. - № 70. – Pp.53-61.

55. Southey J. F. Laboratory Methods of Work with Plant and Soil Nematodes // 6th Edn. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, HMSO, London. 1986. – Pp 120-127.

56. Stefanovska T.R. Possibilities to use *Steinernema carpocapsae* for control of codling moth in apple orchards //Abstracts, 51st International Symposium on Crop Protection, Gent, Belgium, 1998 May. - 1998. - Pp 137.

57. Stefanovska T.R., Pidlisnyuk V.V., Kaya K.K. 2008. Host range and infectivity of *Heterorhabditis bacteriophora* (*Heterorhabditidae*) from Ukraine// Communication in agriculture and applied biological science, Ghent University. – 2008. - № 73(4). – Pp.667 – 669.