

УДК 632.8

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ НЕМАТОД ПРОТИ  
БОРОЗЕНЧАСТОГО СКОСАРЯ (*Otiorrhynchus sulcatus* F.)**

**Т.Р. СТЕФАНОВСЬКА, кандидат біологічних наук**

**Л.П. КАВА, кандидат сільськогосподарських наук**

*Представлено результати вивчення життєвого циклу та біологічних особливостей української культури ентомопатогенної нематоди *H. bacteriophora* та встановлено, що чорний борозенчастий скосарь *O. sulcatus* F. може бути господарем цього паразита. Обговорено перспективи використання ентомопатогенних нематод для біологічного захисту ягідників та виноградників.*

**Ключові слова: фітофаги ягідників, борозенчастий скосар, біологічний захист рослин, ентомопатогенні нематоди**

За дотримання оптимальних умов вирощування ягідні культури відзначаються високою врожайністю. Однак для задоволення потреб населення рівень виробництва ягід в Україні за існуючої системи захисту недостатній. Серед ягідних культур завдяки ранньому досягненню, високим смаковим якостям ягід та вмісту великої кількості вітамінів (С, В, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>), органічних кислот та мінеральних речовин (К, Р, Са, Mg, Fe) особливого значення набуває суниця.

Нині проблема отримання високих та сталих урожаїв суниці значною мірою залежить від розповсюдження і шкідливості окремих видів фітофагів.

Кількість препаратів, дозволених для використання на суниці, дуже обмежена, а втрати врожаю від пошкоджень фітофагами досить суттєві, тому виникає потреба пошуку способів удосконалення та підвищення ефективності захисних заходів. Тому визначення найшкідливіших видів та

пошук заходів захисту від них на основі екологічного підходу до регулювання щільності їх популяцій є актуальними.

За кількістю шкідливих видів на суниці найпоширеніші представники ряду твердокрилі (Coleoptera). Переважно це представники родин пластинчатовусих (Scarabaeidae), ковалики (Elateridae) і довгоносики (Curculionidae). Так, серед довгоносиків найбільше видів, які пошкоджують листки – сірий бруньковий довгоносик, жуки кропивного довгоносика, коротковусий довгоносик, зелений трав'яний довгоносик, корені – личинки кропивного довгоносика та кореневих скосарів. Невелика кількість видів шкідників пошкоджують генеративні органи – бутони, квітки і зав'язь, а найменша – пагони і гілки.

Борозенчастий скосар або плосконіс *Otiorrhynchus sulcatus* F. є ендемічним видом у країнах Європи з помірним кліматом, де він пошкоджує понад 140 різних видів рослин [1] [2]. Останніми роками спостерігається значне поширення борозенчастого скосара (БС), що можна пояснити декількома причинами: забороною на використання хлорорганічних та деяких фосфорорганічних пестицидів, збільшенням кількості видів рослин-господарів та біологічними особливостями шкідника. Незважаючи на велику шкідливість *O. sulcatus*, біологічні особливості цієї комахи дотепер недостатньо вивчені.

Одним із методів захисту рослин та ягід від цього шкідника є застосування пестицидів широкого спектра [3,4,5]. Проте використання хімічних методів захисту рослин та ягід від БС, з огляду на необхідність вирощування екологічно чистої продукції, не перспективне і до того ж застосування окремих видів пестицидів є економічно невиправдане.

Тому, останнім часом як альтернативу хімічним препаратам починають поширювати біологічні методи захисту ягідних культур від БС.

Ентомопатогенні нематоди (ЕПН) є важливими організмами, що використовуються для біологічного захисту рослин від шкідників. Для виробництва мікробіологічних препаратів використовують два роди ЕПН:

*Steinernema* (23 види) та *Heterorhabditis* (8 видів). Препарати на основі ентомопатогенних нематод виявилися ефективними проти корневих довгоносиків та чорного скосаря [6,7,8]. При вирощуванні суниці, смородини, культур декоративного садівництва найкращих результатів було досягнуто за використання таких видів ЕПН: *Heterorhabditis spp.*, *S. feltiae*, та *S. carpocapsae*. Виявилося, що при нормі 5000 нематод на одну рослину ефективність дії проти БС на суниці та культурах декоративного садівництва в умовах закритого ґрунту становила відповідно 55% та 90% [9]. Згідно з даними польових досліджень, представники роду нематод *Heterorhabditis* є зазвичай ефективнішими, ніж роду *Steinernema* [10].

Відомо що в Україні БС пошкоджує суницю, смородину та декоративні рослини у відкритому ґрунті [11]. Останнім часом спостерігається досить інтенсивне поширення БС саме в теплицях, зумовлене збільшенням обсягів вирощування рослин-господарів. Окремі декоративні рослини та квіти, такі як азалія, рододендрон раніше були досить рідкими для України, а тепер масово вирощуються у теплицях або завозяться з країн Західної та Центральної Європи. Тому слід чекати підвищення рівня шкідливості цього фітофага у зв'язку з покращенням кормової бази.

**Мета досліджень** – вивчення циклу розвитку ЕПН на борозенчастому скосарі, враховуючи біологічні особливості останнього, та дослідження перспектив застосування ЕПН для регулювання чисельності *O.sulcatus* на ягідниках.

**Методика досліджень.** Біологічні особливості довгоносика вивчали в польових умовах у Західному Лісостепу України та у лабораторії моніторингу комах Національного університету біоресурсів та природокористування України. Облік кількості личинок та жуків скосарів проводили згідно із стандартними методиками, запропонованими В.В.Косовим та І.Я. Поляковим. Для вивчення циклу розвитку нематод на борозенчастому скосарі личинок скосарів останнього віку, зібраних у природних умовах, заражали ентомопатогенними нематодами (ЕПН).

Середня маса личинок становила 50-60 мг. Для зараження довгоносика нематодами роду *H. bacteriophora* їх виділили з ґрунту та визначили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції PCR-RELP. Доза зараження нематою личинок довгоносика становила 10, 20, 50 та 100 ІЛ/особу.

Інфекційні личинки *H. bacteriophora* для зараження борозенчастого скосяра розмножували на гусені *Galeria melonella* [12,13]. Сприйнятливість борозенчастого скосяра до ЕПН вивчали визначенням смертності личинок у біотесті, яку реєстрували протягом 72 годин. Придатність комахи як господаря ЕПН визначали за репродукційним потенціалом – здатністю нематод розвиватися у її мертвих личинках.

Статистичну обробку даних смертності *O. sulcatus* та дози нематод аналізували як факторіальний аналіз із визначення найменшої суттєвої різниці ANOVA за програмою Sas Institute [14].

**Результати досліджень.** Вивчення циклу розвитку *H. bacteriophora* в личинках борозенчастого скосяра показало його цілковиту придатність як комахи-господаря нематоди (таблиця).

Максимальна смертність личинок довгоносика від *H. bacteriophora* становила 90%. Встановлено вплив різних доз зараження нематою (10,20,50,100 ІЛ/особину) на смертність личинок борозенчастого скосяра. Найоптимальнішою для зараження виявилася доза 50 ІЛ/особину. Репродуктивний потенціал для розмноження ЕПН у комахи був високим – 76%. Найкращі умови для розвитку нематоди створювалися в господарі при дозі 50 ІЛ/особину. Маса загиблих личинок довгоносика не впливала на сумарний вихід личинок нематод. Було також встановлено, що *H. bacteriophora* заражує також інші фази борозенчастого скосяра, але личинки є найуразливішими до зараження патогеном.

Життєвий цикл нематод складається з личинок чотирьох віків та дорослої особини. Всі стадії, за винятком інфекційної личинки третього віку, (ІЛ) знаходяться всередині паразитованої комахи (рисунок). Інфекційні

личинки нематоди *H. bacteriophora* потрапляють в тіло личинок скосяря через рот, анус, дихальця. Після проникнення у тіло господаря, нематоли випускають з свого кишківника у гемолімфу комахи симбіотичні бактерії роду *Photophabdus*. Нематоли *Heterorhabditis spp* та бактерії *Photorhabdus* мають симбіотичні відносини. Внаслідок зараження бактеріями личинки довгоносика досить швидко гинуть – за 48-72 години. Згодом нематоли перетворюються на личинку четвертого віку і врешті на дорослу особину, здатну до розмноження. Статеві особини першого покоління формуються протягом 3-4 днів і є гермафродитами. Тобто, навіть одна інфекційна личинка *H. bacteriophora*, яка потрапила всередину тіла довгоносика, може спричинити інфекцію. В подальшому в тілі личинки борозенчастого скосяря розвивається два, а інколи три додаткових покоління нематод, поки тіло повністю не зруйнується.

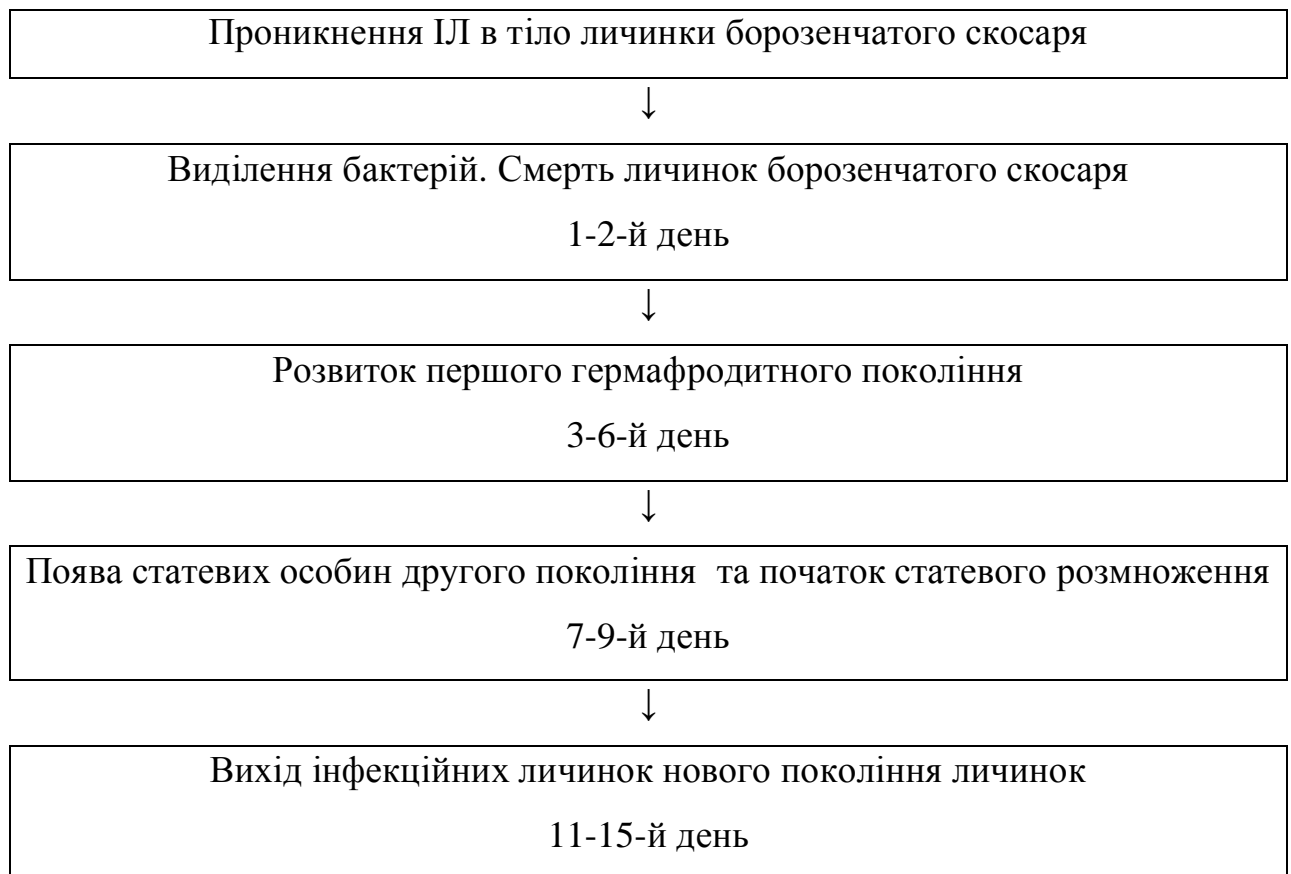
Характерною ознакою зараження *H. bacteriophora* є те, що личинки мертвого борозенчастого скосяря мають люмінесцентне світіння в темряві та поступово набувають кіноварно-червоного забарвлення. Згодом від трупа комахи залишається лише кутикула і на кінець, з мертвої комахи виходять личинки нематод третього віку (ІІІ), здатні заражувати нових комах. У випадку, коли придатного господаря немає, нематоли на стадії ІІІ можуть знаходитися в ґрунті до 3 років і не потребують живлення.

На цій стадії вони стійкі проти багатьох сучасних пестицидів, але чутливі до змін вологості. При зниженні вологості ґрунту вони гинуть.

**Вплив дози зараження *H. bacteriophora*  
на сприйнятливість до неї личинок борозенчастого скосаря**

Доза нематод, ІЛ/особину	Смертність личинок, %	Репродукційний потенціал, %
Контроль	0,7a*	0 а
10	25,1b	18в
20	76.2c	24с
50	90d	67в
100	79 с	50е

\*Різні букви біля цифр показують наявність достовірних відмін між середніми



Цикл розвитку ентопатогенної нематоди *H.bacetriophora*  
на борозенчастому скосарі

## Висновки

1. Борозенчастий скосар *O. sulcatus* може бути господарем для паразитування ентомопатогенної нематоди *H.bacteriophora* в лабораторних умовах. Про це свідчить 90%-ва смертність личинок довгоносика останнього віку від нематод та 76%-вий репродукційний потенціал комахи.

2. Цикл розвитку *H. bacteriophora* в личинках борозенчастого скосаря в лабораторних умовах за температури 25 °C 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.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Masaki M., Ohmura K., Ichinohe F. Host range studies of the black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae) / M. Masaki, K.Ohmura, F. Ichinohe // Applied Entomology and Zoology, 19. – 1984. – P. 95-106.

2. van Tol R.W.H.M. Host plant preference and performance of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* / van Tol R.W.H.M., van Dijk, M.W. Sabelies // Agricultural Forest Entomology, 6. – 2004. – P. 267-278.

3. Parrella M.P. Black vine weevil: increasing problem for California nurseries / M.P. Parrella, C.B. Keil // California Agriculture 381.1984. - P. 12-14.

4. Oakley J. Alternative methods to control vine weevil in strawberries. HDC Project News 28, p.12. Horticulture Development Council, Petersfield. – 1994.

5. Umble J.R. Influence of temperature and photoperiod on previposition duration and oviposition of *Otiorhynchus ovatus* (Coleoptera: Curculionidae) / J.R. Umble, J.R.Fisher // Annals of the Entomological Society of America, 95.– 2002. – P. 231–235.

6. Kaya H.K., Gaugler R. Entomopathogenic nematodes / H.K. Kaya, R. Gaugler // Annual Review of Entomology, 38. – 1993. – P. 181–206.
7. Сучасний стан та перспективи використання ентомопатогенних нематод / [Е.Е. Люїс, Т.Р. Стефановська, В.В. Підліснюк, Х.К. Кайа] // Вісник Кременчуцького державного політехнічного університету ім. Михайла Остроградського. – 2009. – №4 (57)., Ч.2. – С.130–148.
8. Burlando T.M. Insect-parasitic nematodes are effective against black vine weevil / T.M. Burlando, H.K. Kaya, P. Timper // California Agriculture. – 1993. – №47. – P. 16-18.
9. Kakouli-Duarte T. Biological control of the black vine weevil *Otiorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) / T. Kakouli-Duarte, L. Labuschagne, N.M. Hague // Annals of Applied Biology, 131. – 1997. – P. 11–27.
10. Sampson A.C. Control of *Otiorynchus sulcatus* in soft fruit using drench treatment of *Steinernema carpocapsae* / A.C. Sampson // Proceedings of Brighton Crop protection Conference, Pest and Diseases 2. – 1994. – P. 601-608.
11. Стефановська Т.Р. Ефективність розмноження ентомопатогенних нематод роду *Heterorhabditis* та *Steinernema* на воцаній молі та борошняному хрущаку / Т.Р. Стефановська // Електронний журнал «Наукові доповіді НАУ». – 2007 (7) – №2.
12. Kaya H.K. Techniques in insect nematology. In: Lacey, L. (ed.). Manual of Techniques in Insect Pathology / H.K. Kaya – New York: Academic Press. – 1997. – P. 281–324
13. Стефановська Т.Р. Біологічні особливості розвитку ентомопатогенних нематод *Steinernema carpocapsae* та *Heterorhabditis bacteriophora* на личинках борозенчатого скосяря *Otiorynchus sulcatus* / Т.Р. Стефановська, Л.М. Коханець // Агроєкологічний журнал. Спеціальний випуск, червень 2008. – С. 19–22
14. SAS Institute. SAS 6.11. for Windows. SAS 1998.



## **Эффективность энтомопатогенных нематод против бороздчатого скосяря**

**Т.Р. Стефановская, Л.П. Кава**

Представлены результаты изучения жизненного цикла энтомопатогенной нематоды *H.bacteriophora* и установлено, что бороздчатый скосярь является пригодным хозяином для паразитирования этой нематоды. Обсуждаются перспективы использования энтомопатогенных нематод для биологической защиты ягодников и виноградников.

**Ключевые слова:** фитофаги ягодников, бороздчатый скосярь, биологическая защита растений, энтомопатогенные нематоды

## **CONTROL OF BLACK WINE WEEVIL USING ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES**

**T.R. Stefanovska, L.P. Kava**

*The life cycle of Ukrainian isolate of H.bacteriophora on black vine weevil was studied at the laboratory conditions. It was shown that this pest is appropriate host for Ukrainian isolate of H.bacteriophora and can be used in biocontrol programs in small berry orchards and vineyards*

**Key words:** herbivorous pests in small berry orchards, biocontrol, black vine weevil, entomopathogenic nematodes.