

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЗАХИСТУ РОСЛИН**

КОВТУН АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 595.132:574.4(477)

**ВИДОВИЙ СКЛАД, ПОШИРЕННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ
НЕМАТОД В АГРОЦЕНОЗАХ УКРАЇНИ**

16.00.10 – Ентомологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Київ – 2025

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у лабораторії нематології Інституту захисту рослин Національної академії аграрних наук України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НААН
Сігарьова Діна Дмитрівна,
Інститут захисту рослин НААН, головний науковий
співробітник лабораторії нематології

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник
Ткаленко Ганна Миколаївна,
Інститут захисту рослин НААН, заступник директора

кандидат біологічних наук, доцент
Стефановська Тетяна Робертівна,
Національний університет біоресурсів і
природокористування України МОН України, доцент
кафедри ентомології, інтегрованого захисту та карантину
рослин

Захист дисертації відбудеться «5» березня 2025 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.376.01 в Інституті захисту рослин НААН за адресою: 03022, м. Київ-22, вул. Васильківська, 33, корпус № 1, зала засідань.

З дисертацією можна ознайомитися в науковій бібліотеці Інституту захисту рослин НААН за адресою: 03022, м. Київ-22, вул. Васильківська, 33, корпус № 1.

Автореферат розісланий «31» січня 2025 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради



С. М. Вигера

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Останнім часом стрімких темпів розвитку набирає особливий напрям в сучасній нематології, пов'язаний з розробкою методів біологічного контролю шкідників за застосування нематод – паразитів (патогенів) комах, що викликають нематодні хвороби. Серед екологічної групи ентомонематод, на особливу увагу заслуговують представники двох родин – *Steinernematidae* Chitwood et Chitwood, 1937 та *Heterorhabditidae* Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida), яких визначають як «ентомопатогенні нематоди» (ЕПН). Завдяки їх мутуалістичному зв'язку із кишечними бактеріями-симбіонтами з родів *Xenorhabdus* Thomas, Poinar, 1979 emend. Thomas, Poinar, 1983 та *Photorhabdus* *Voemare et al.*, 1993 (γ -Proteobacteria: Enterobacteriaceae), вони здатні знищувати комах та розвиватися в їхніх трупах, що дозволяє використовувати в практичних цілях, як біоінсектициди у сільському господарстві.

Сьогодні ЕПН успішно застосовують для захисту рослин у багатьох країнах світу (США, Канади, Колумбії, Австралії, Японії, Туреччині, країнах Європейського Союзу), в яких розробляються та впроваджуються у виробництво біопрепарати на їх основі для контролю небезпечних видів шкідників сільськогосподарських культур.

Не дивлячись на те, що сьогодні ентомопатогенні нематоди застосовують у захисті рослин у багатьох країнах світу, в Україні до цих пір залишаються мало вивченою групою нематод-рабдитид серед широкого загалу спеціалістів-біологів і, зокрема, ентомологів, як у відношенні первинних фауністичних даних, так і щодо прикладних аспектів, насамперед, через прихований спосіб життя цієї своєрідної екологічної групи червів та не часте їх трапляння у природі, через що вони досі не знайшли належного місця у вітчизняному мікробіологічному захисті сільськогосподарських культур.

Успішне впровадження та раціональне використання ентомопатогенних нематод (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) як біоагентів, які б обмежували чисельність шкідливих видів комах в агроценозах є неможливим без базових знань щодо фауністичних даних, доповнення і уточнення даних щодо поширення окремих їх видів. Саме тому гостро постає питання пошуку, виявлення, ідентифікації місцевих видів та ізолятів ентомопатогенних нематод, що є одним із вирішальних напрямків для створення лабораторної культури ентомонематод та подальшим вивченням ентомоцидної активності ЕПН щодо комах у лабораторно-польових дослідах, а також з'ясування чинників та умов, що визначають характер поширення їх в агроценозах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках тематики лабораторії нематології Інституту захисту рослин НААН за завданням «12.01.00.21.П. Розробити превентивні та контролюючі протинематодні заходи в системі фітосанітарної безпеки» (державний реєстраційний номер: 00116U003530) у 2015-2018 рр.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – вивчити видовий склад ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) у агроценозах; виявити чинники, що визначають поширення їх в агроценозах України, а також оцінити патогенність місцевих видів ентомопатогенних нематод проти шкідників сільськогосподарських культур.

Для досягнення цієї мети були поставлені завдання:

Провести обстеження різних агроценозів України на виявлення ентомопатогенних нематод з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae;

Ізолювати та виділити ентомопатогенні нематоди із ґрунтових проб і зразків тест-комах в лабораторних умовах;

Розмножити виявлені місцеві (аборигенні) ізоляти ентомопатогенних нематод для отримання різних стадій онтогенезу – інвазійних личинок та дорослих особин;

Ідентифікувати видову належність ентомопатогенних нематод шляхом аналізу морфологічної будови та морфометричних параметрів із застосуванням методів світлової мікроскопії;

Дослідити морфологічну мінливість популяцій окремих видів ентомопатогенних нематод залежно від географічної віддаленості (різних природних зон України);

З'ясувати чинники та умови, що визначають характер поширення нематод – патогенів комах в агроценозах, частоту трапляння окремих видів.

Дослідити ентомоцидну активність виявлених ізолятів ентомопатогенних нематод на шкідливі види фітофагів за експериментального зараження в лабораторних умовах.

Розробити концептуальну схему проведення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах.

Об'єкт дослідження – ентомопатогенні нематоди з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida), ґрунтові комахи-шкідники, агроценози України.

Предмет дослідження – видовий склад ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae); закономірності їх поширення в агроценозах України; морфолого-біологічні особливості місцевих ізолятів ентомопатогенних нематод, інсектицидна дія на комах.

Методи дослідження. Для досягнення мети і вирішення поставлених завдань використовували методи *теоретичні*: аналіз та синтез, порівняльно-описовий, узагальнення науково-практичних та дослідницьких даних; *польовий*: обстеження агроценозів, відбір ґрунтових проб, закладання ґрунтових пасток із тест-комахами, збір і облік комах-шкідників; *лабораторний*: ізоляція та виділення ентомопатогенних нематод із проб ґрунту, загиблих комах-хазяїв і культивування на тест-комах, дослідження морфології та морфометрії ізолятів методами світлової мікроскопії, визначення родової (та/або видової) належності ентомопатогенних нематод та шкідливих комах; експериментальне зараження тест-комах *in vivo*; *математично-статистичні*: методи описової та варіаційної статистики – аналіз середніх величин, оцінка достовірності отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що у роботі *вперше*: виявлено локалітети ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. (Steinernematidae) та *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae) на Поліссі – у Житомирській та Чернігівській областях України, що суттєво поглиблює знання про специфіку умов існування місцевої нематодофауни;

zareєстровано явище гіперпаразитизму у тілі загиблих комах *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) в природних умовах при виявленій мікст-інфекції, а

саме – ентомофаго-нематодній паразитарній асоціації;

показано, що деякі види ентомопатогенних нематод (зокрема *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976) є досить стенотопними – віддають перевагу лише певним типам агроценозів; інші види (*Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982) – евритопні, заселяють різноманітні сільськогосподарські угіддя;

запропоновано науково-практичні підходи та розроблено концептуальну схему ентомонематологічного моніторингу в агроценозах.

Розширено і доповнено дані щодо місцевої нематодофауни, а також особливостей поширення окремих видів ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) на території Полісся і Лісостепу України.

Подальшого розвитку набули:

дослідження щодо пошуку популяцій аборигенних видів ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae) для ефективного використання, як перспективних мікроорганізмів-біоагентів проти шкідливих видів комах;

дослідження патогенного впливу виявлених місцевих видів ентомопатогенних нематод на організм шкідливих комах за експериментального зараження в лабораторних умовах.

Практичне значення одержаних результатів. Отримано дані щодо місцевої фауни ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae), як складової гетеротрофної частини агроценозів України слугують основою для створення і відтворення лабораторної культури ентомопатогенів (яка є вихідним матеріалом для напівпромислового та промислового виробництва) з подальшим дослідженням інсектицидної активності щодо шкідливих видів комах (Coleoptera: Scarabaeidae).

Практична цінність результатів дисертаційного дослідження підтверджується впровадженням у виробничий процес ФГ «У Самвела» (Одеська обл., Біляївський район, с. Мирне) та СГ «В. В. Плакущенко» (Одеська обл., Роздільнянський район, с. Гребеники) (довідка № 359/5 від 25.09.2020 року). Основні теоретичні, практичні та науково-методичні положення і висновки, використовуються у навчальному процесі кафедри садівництва, виноградарства, біології та хімії та кафедрою захисту, генетики і селекції рослин агробіотехнологічного факультету Одеського державного аграрного університету (м. Одеса) при розробці робочих програм, методичних матеріалів та практичних завдань з дисциплін: «Мікробіологія в рослинництві», «Мікробіологія з основами вірусології», «Загальна мікробіологія», «Антагоністи шкідливих мікроорганізмів у захисті рослин», «Біологічний захист рослин», «Біологічний захист сільськогосподарських культур», «Ентомологія», «Загальна ентомологія», «Інтегрований захист рослин», «Основи біологічного захисту від шкідників» (довідка № 208/1 від 25.05.2023 року).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота – самостійне наукове дослідження автора. Дисертантом проаналізовано літературні джерела, розроблено програму досліджень, проведено польові та лабораторні дослідження, збір матеріалу, культивування ентомопатогенних нематод та тест-комах, дослідження морфології та морфометрії ентомопатогенних нематод, оцінку патогенного впливу на шкідливих комах, статистичний аналіз, узагальнення та інтерпретацію отриманих результатів досліджень, підготовлено дисертацію, автореферат та публікації у фахових виданнях

до друку.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідалися й обговорювалися: на засіданнях лабораторії нематології, Вчених радах Інституту захисту рослин НААН впродовж 2015-2018 рр. та на науково-практичних конференціях різного рівня: V Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених (Житомир, 14 липня 2016 рік); Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин» (Київ, 7–9 листопада 2016 р.); XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП) (Львів, 18–21 вересня 2017 р.); III Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція. (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.); XI Наукова конференція молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві». (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.); науково-педагогічне підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства «Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії» (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021р.); I Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти» (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.); III Всеукраїнська науково-практична конференція "Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024" (Житомир, 31 травня 2024 р.).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 16 наукових праць, з них: 6 наукових статей у фахових виданнях України, що входять до категорії «А» та «Б»; одна стаття у науковому періодичному виданні іншої держави; 9 тез у матеріалах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, п'яти розділів, висновків, рекомендацій виробництву, списку літератури та додатків. Включає перелік скорочень, умовних позначень, символів, одиниць і термінів. Робота викладена на 209 сторінках та ілюстрована 26 рисунками і містить 11 таблиць та 4 додатки. Список літератури включає 160 джерел, з них 57 кирилицею.

Подяки. Автор висловлює подяку науковому керівнику, доктору біологічних наук, професору, член-кореспонденту НААН України Д. Д. Сігарьовій за спільну плідну роботу, співробітникам лабораторії нематології, колегам та керівництву Інституту захисту рослин НААН, співробітникам Одеського державного аграрного університету, рідним, близьким за всебічну підтримку та допомогу в написанні та підготовці дисертації.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

1. ЕНТОМОПАТОГЕННІ НЕМАТОДИ З РОДИН STEINERNEMATIDAE ТА HETERORHABDITIDAE (NEMATODA: RHABDITIDA), ЯК ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ (огляд літератури)

У теоретичній частині роботи проаналізовано та подано сучасну таксономію та систематику ентомопатогенних нематод (Steinernematidae та Heterorhabditidae), характерні особливості їх діагностування. При розгляді родів ентомопатогенних нематод досліджено: синонімію, типовий вид, кількість валідних видів у світовій

фауни та фауни України, а також видів які розглядаються як «*species inquirendae*» та «*nomina nuda*». Подано історію дослідження ентомопатогенних нематод у світовому контексті, а також узагальнено основні напрями і наукові досягнення вивчення ентомопатогенних нематод в Україні. Проведено аналіз географічного поширення ентомопатогенних нематод на глобальному та континентальному рівнях (макро-розподіл). Розглянуто роль ентомопатогенних нематод, як природних регуляторів комах-шкідників в агроценозах. Висвітлено біолого-екологічні особливості ентомопатогенних нематод з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae, життєві цикли їх розвитку та зв'язок із бактеріями-симбіонтами (Enterobacteriaceae).

2. МІСЦЕ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Місце проведення досліджень. В основу роботи покладені матеріали фрагментарних обстежень агроценозів (посівні площі сільськогосподарських культур, багаторічні сільськогосподарські насадження – плодові сади, плантації декоративних насаджень) у літньо-осінній період 2016–2021 рр.

Відбирали ґрунтові проби та закладали ґрунтові «живі» пастки в 22 населених пунктах (далі – н.п.) 17 районів 7 областей України – Житомирській (3 р-ни, 5 н. п.), Чернігівській (3 р-ни, 4 н. п.), Київській (3 р-ни, 3 н. п.), Вінницькій (1 р-н, 1 н. п.), Хмельницькій (3 р-ни, 4 н. п.), Черкаській (3 р-ни, 4 н. п.) та Одеській (1 р-н, 1 н. п.), території яких знаходяться у межах трьох основних ґрунтово-кліматичних зон країни – Полісся, Лісостепу та Степу (рис. 1).

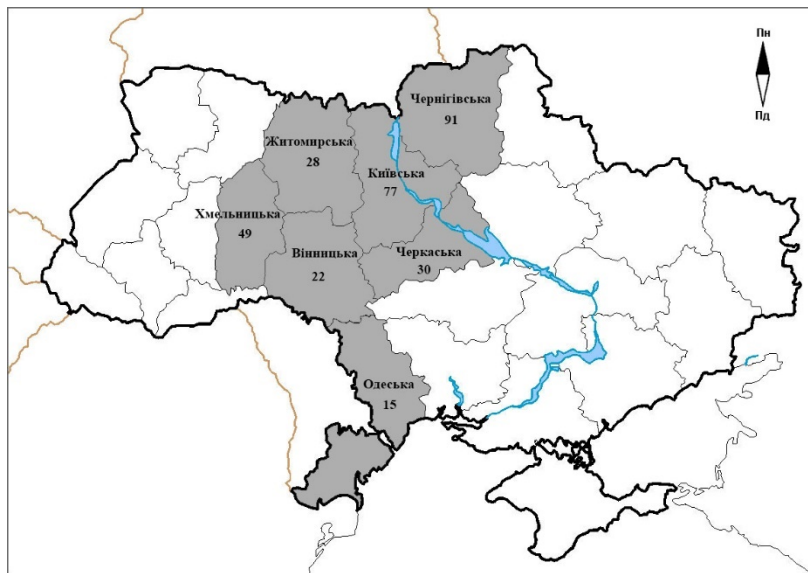


Рис. 1. Карта-схема відбору ґрунтових проб / закладання «живих» пасток. Цифри – кількість відібраних проб. Оригінал.

Проби відбирались на посівах сільськогосподарських культур: зернові та зернобобові (*Triticum aestivum* L., *Avena sativa* L., *Fagopyrum esculentum* Motnch., *Phaseolus vulgaris* L.), технічні (*Beta vulgaris* L., *Helianthus annuus* L., *Glycine max* (L.) Merr.), овочеві та баштанні (*Solanum tuberosum* L., *Cucurbita pepo* L.) та кормові (трави

багаторічні – *Medicago sativa*); у насадженнях плодоносних садів: кісточкові (*Prunus domestica* L., *Prunus cerasus* L., *Prunus avium* L., *Prunus armeniaca* L., *Prunus persica* (L.) Batsch), зерняткові (*Malus domestica* L., *Pyrus communis* L.), ягідні (*Morus nigra* L., *Hippophae rhamnoides* L.) та горіхоплідні (*Juglans regia* L.), а також на плантаціях декоративних рослин (*Viburnum opulus* L., *Juniperus communis* L., *Thuja occidentalis* L.).

Матеріали досліджень. Матеріалом для досліджень слугували проби ґрунту, ґрунтові «живі» пастки, зразки тест-комах *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) та потенційних комах-хазяїв різних видів (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Melolonthinae; Lepidoptera: Noctuidae), інвазійні личинки та дорослі особини ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae), а також інші ентомопатогенні організми (Fungi, Bacteria, Insecta), які спричиняли різні інфекційні та паразитарні хвороби різної етіології.

Методики проведення досліджень. Для проведення різного роду експериментальної роботи з ентомопатогенними нематодами (ізоляція, виділення, розмноження, вивчення патогенності), проводили культивування жертв – комах-хазяїв в лабораторних умовах. У дослідженнях, в якості тест-об'єкта, використовували велику воскову міль *Galleria mellonella* L., 1758. Для розведення *G. mellonella* використовували «пасічну мерву», яку вміщували у скляні 3 л банки, які у свою чергу вміщували до термостату. Умови інкубування складала $+27\pm 2$ °C, відносна вологість повітря $50\pm 5\%$, і фотоперіод 16/8 год (день/ніч) (Alrubei, M.A.J. Al-Izzi, 1986). У експериментах використовували личинки останньої вікової стадії, вагою $0,20\pm 0,03$ г.

Для виявлення ентомонематод використовували три базові способи: безпосередній відбір проб ґрунту, закладання ґрунтових «живих» пасток та збір (відловлювання) потенційних комах-хазяїв. Видовий склад виявленої ґрунтової ентомофауни визначали в лабораторних умовах за допомогою визначників (Гусев *та ін.*, 1962; Національна мережа... 2019) та консультувались з фахівцями Інституту захисту рослин НААН.

Диференціювання нематодозних захворювань комах, викликаних ентомопатогенними нематодами, здійснювали на підставі макроскопічного аналізу (наочно, за допомогою ручної лупи [зб. $\times 10$] або мікроскопу МБС-9) комплексу патологічних змін: зміна кольору зовнішніх покривів, розмірів, форми та консистенції тіла, наявність специфічного запаху, особливості поведінки (рухливість, живлення) та характер розташування, що спостерігаються у дослідних заражених і загиблих комах роду *Galleria* (*G. mellonella* L.) при проникненні й подальшому паразитуванні ентомопатогенів (Штейнхауз, 1952; Злотин, 1989).

З метою ізоляції ентомопатогенних нематод із відібраних проб ґрунту застосовували метод біопроби (біотестування) на личинках великої воскової молі *G. mellonella* (Orozco *et al.*, 2014).

Виділення ентомопатогенних нематод із загиблих тест-комах з чіткими симптомами нематодного ураження здійснювали шляхом застосування «водної пастки» (пастка Уайта) (White, 1927). Окрім цього, комах піддавали гелмінтологічному розтину з подальшим ретельним переглядом їх під стереоскопічним мікроскопом МБС-9 (Лазаревская, 1962; Злотин, 1989).

Для отримання різних стадій розвитку ентомопатогенних нематод проводили штучне інфікування – личинок воскової молі *Galleria mellonella* L., 1758 в лабораторних умовах. За допомогою просякнутої ефіром (чи хлороформом) шерстяної нитки анестезували дослідних комах, а потім обприскували суспензією нематод (з розрахунку 100 інвазійних личинок/комахи) у попередньо простерилізованих чашках Петрі з вкладеним фільтрувальним папером. Чашки Петрі із зараженими тест-об'єктами витримували у затемненому місці (чи при розсіяному світлі) за кімнатної температури (22-24 °C) (Harry Kaya, Patricia Stock, 1997).

Фіксацію ентомопатогенних нематод та виготовлення препаратів для світлової мікроскопії проводили за методиками (Суменкова, 1978; Яковлєв, Харченко, 2015).

Ідентифікацію ізольованих ентомопатогенів (на родовому/видовому рівні) здійснювали по зовнішньому вигляду загиблих від них тест-комахи *G. mellonella*, а також за особливостями морфолого-морфометричних ознак інвазійних личинок (L3), самців (♂), самиць (♀) чи гермафродитних особин I-ї та II-ї генерацій ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae) методами світлової мікроскопії під мікроскопом Carl Zeiss Primo Star із використанням системи аналізу зображень TourView 3.7 (for Digital Camera) при загальному збільшенні $\times 100$ – 1000 та спеціальних визначників (Nguyen & Smart 1996; Nguyen *et al.* 2007). Мікрофотографування об'єктів дослідження проводили за допомогою цифрової камери для мікроскопа TourCam SCMOS03000KPA 3.0MP.

Розраховували наступні співвідношення та індекси ентомопатогенних нематод: L – загальна довжина тіла; W – найбільша ширина тіла; EP – відстань від переднього кінця до екскреторної пори; ES – довжина стравоходу; TL – довжина хвоста; ABW – ширина тіла на рівні анального отвору; SL – довжина спікули; GL – довжина губернакулума; MUC – наявність/відсутність мукрона, його довжина; V – вульва; HT – довжина гіалінової частини хвоста; $D\% = (EP/ES) \times 100$; $E\% = (EP/TL) \times 100$; $GS\% = (GL/SL) \times 100$; $SW\% = (SL/ABW) \times 100$; $H\% = (HT/TL) \times 100$; у т. ч. індекси Де Мана, а саме: $a = L/W$; $b = L/ES$; $c = L/TL$; $c' = TL/ABW$.

Дослідження інсектицидної дії виявлених ізолятів ентомопатогенів *Steinernema* sp. щодо цільових комах-шкідників – личинок західного травневого хруща *Melolontha melolontha* L., 1758 проводили у лабораторних умовах шляхом обприскування суспензією нематод (з розрахунку 100 інвазійних личинок (L3)/комахи) попередньо анестезованих ефіром (чи хлороформом) дослідних комах (Harry Kaya, Patricia Stock, 1997). Для порівняння використовували біологічний препарат Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі ентомопатогенної нематоди виду *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982. Ефективність (% смертності комах з інтервалом у 24 год) і репродуктивний потенціал (здатність нематоди розвиватися в тілі загиблого хазяїна та продукувати інфекційні личинки) *Steinernema* spp. на личинках західного травневого хруща визначали за (Стефановська, Кава, 2012).

Математично-статистичну обробку отриманих даних здійснювали методами описової та варіаційної статистики, з використанням програм обробки даних «SPSS Statistics 17.0» та «Microsoft Excel 2016». Аналіз тенденцій основних досліджуваних показників у відповідних порівнюваних групах проводили за допомогою розрахунку U-критерія Манна-Уїтні (при $p \leq 0,05$).

Частоту трапляння (у %) родів/видів ентомопатогенних нематод визначали у відсотках як відношення числа проб, в яких даний рід/вид траплявся, до загальної кількості відібраних та проаналізованих проб (Bedding, Akhurst, 1975; Vafa, Ayatollah, 2022).

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Частота трапляння нематод (RHABDITIDA: STEIENERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE) серед ентомопатогенних організмів в агроценозах України. Встановлено, що серед 312 проаналізованих проб (220 ґрунтових проб + 92 «живих» пасток), відібраних в агроценозах різних регіонів України: Житомирська область (N=28 проб), Чернігівська область (N=91 проба), Київська область (N=77 проб), Вінницька область (N=22 проби), Хмельницька область (N=49 проб), Черкаська область (N=30 проб) та Одеська область (N=15 проб) – 30,5% виявились позитивними щодо ентомопатогенних організмів різної етіології (Nematoda, Fungi, Bacteria, Insecta), які викликають інфекційні та паразитарні захворювання комах у формі моно- та змішаної (мікст) інфекцій.

Як видно з наведених даних діаграми (рис. 2), найбільшу частку серед них – 15% займає саме нематодозна інфекція [збудники – нематоди з родів *Steinernema* Travassos, 1927 та *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (Rhabditida: Steienernematidae та Heterorhabditidae)].

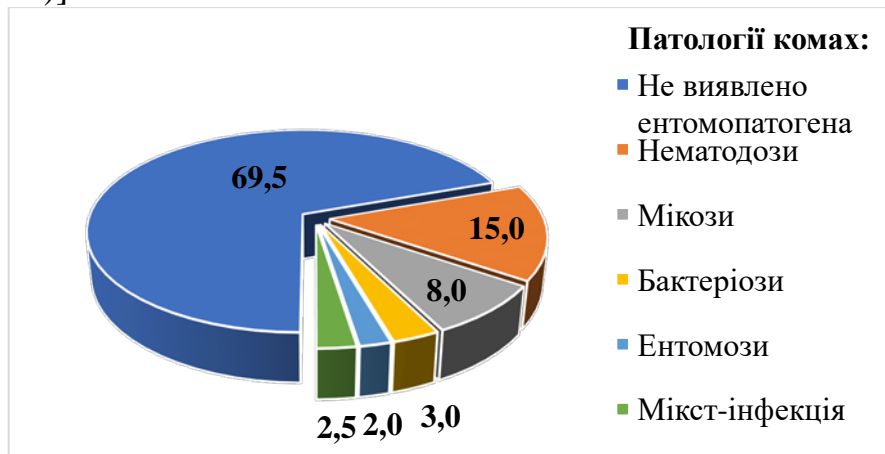


Рис. 2. Поширеність інфекційних та паразитарних збудників захворювань серед тест-комах *Galleria mellonella* (у %) в досліджуваних пробах ґрунту та «живих» пастках, виявлених в ґрунтах агроценозів України (2016-2021 рр.)

Окрім нематодної інфекції, в досліджуваних пробах діагностовано численні мікози [збудник білої мускардини – види із роду *Beauveria* Vuill., 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae), збудник зеленої мускардини – види із роду *Metarhizium* Sorokin, 1879 (Hypocreales: Clavicipitaceae) та види із роду *Akanthomyces* Lebert, 1858 (Hypocreales: Corduscipitaceae)], на які сумарно припадає 8% позитивних проб. Аналіз зовнішнього вигляду деяких загиблих тест-комах давав можливість судити про бактеріальний характер захворювання, які складали 3% позитивних проб. Відмічено випадки зараження ентомозами – ендопаразитичними личинками мух (Diptera: Tachinidae) –

2%. Рідко спостерігали мікст-інфекцію, що викликала декількома збудниками різної етіології, зокрема нематодами та грибами (мускардіноз), чи нематодами та личинками мух (міазами). Змішана інфекція виявлена у 2,5% від загальної кількості досліджених проб (рис. 2), з найвищим показником ураження комах *G. mellonella* при нематодозі із мускардінозом.

За нашими спостереженнями, у випадку ентомофаго-нематодної паразитарної асоціації при нематодозі із ентомозом, можна стверджувати про явище гіперпаразитизму в природних умовах, так як личинки паразитичних мух, які заразили комах *G. mellonella*, у свою чергу, були інфіковані ентомопатогенними нематодами у тілі загиблої комахи. Подібний випадок мікст-інфекції в доступній науковій літературі відсутній.

Не менш актуальним і складним є питання частоти зараження ентомопатогенними нематодами шкідливих комах та їх гостальної специфічності (харчової спеціалізації) у біоценозах. Лабораторний аналіз зібраних та відловлених в природних умовах ґрунтових комах (>100 екземплярів) на предмет їх зараження ентомопатогенами – не виявив в них інвазій. Вважаємо, що це пов'язано, у першу чергу, з малим обсягом вибірки комах (рис. 3).

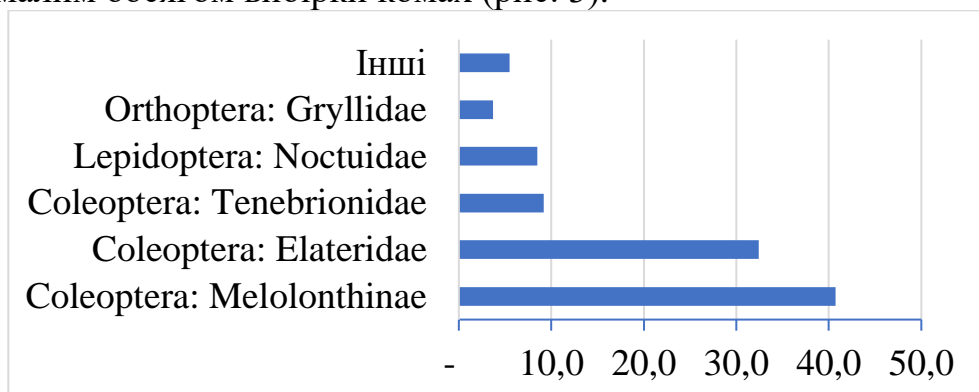


Рис. 3. Склад основних родин класу комах – *Insecta*, виявлених у різних обстежуваних агроценозах України, % від загальної кількості (за період 2016-2021 рр.)

Усі виявлені комахи, за деяким виключенням, згідно з даними літератури (Артюховский, 1967; Веремчук, 1969), потенційно могли бути хазяєвами для ентомопатогенних нематод.

Заселеність агроценозів України ентомопатогенними нематодами (STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE). Проведено оцінку щодо особливостей поширення ентомопатогенних нематод (на родовому рівні) у агроценозах досліджуваних регіонів України.

Частота виявлення позитивних проб (% проб) із ентомопатогенними нематодами, їх родова різноманітність значно варіювали в залежності від місць обстежень (регіонів, областей), типу агрофітоценозу (посіви польових культур, багаторічні насадження), а також від виду-еდიфікатора агроценозу. Відносний показник заселеності (частота трапляння, %) ентомопатогенних нематод в районах зони Лісостепу не достовірно перевищував ($U = 5$ при $p < 0,05$) райони із зони Полісся – 16,9% та 13,6% заражених проб відповідно. У степовій зоні, зокрема в Одеській

області, не виявлено ентомопатогенних нематод. Основні пункти виявлення ентомопатогенних нематод зосереджені в 3-х областях, а саме: Чернігівська область – Козелецький р-н (м. Остер, с. Морівськ), Чернігівський р-н (с. Боромики), Менський р-н (с. Кисилівка); Житомирська область – Овруцький р-н (м. Овруч); Київська область – Баришівський р-н (сміт Баришівка) (рис. 4). Частота виявлення ентомопатогенних нематод була неоднаковою в різних областях, і коливалась в межах від 12,0% (Чернігівська обл.) до 43,7% (Київська обл.).

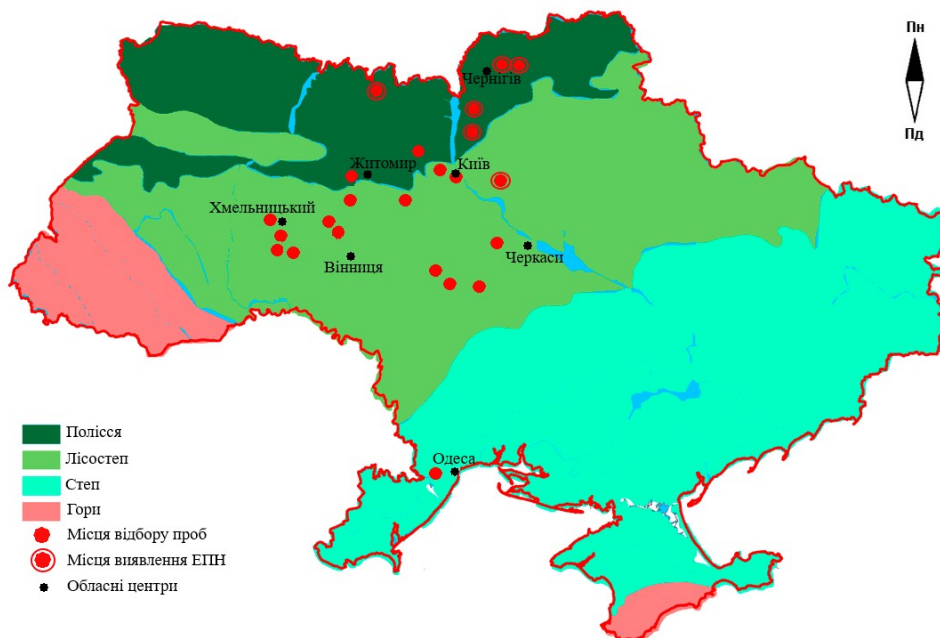


Рис. 4. Мапа місць відбору проб та основних пунктів виявлення ентомопатогенних нематод. Оригінал.

Результати нематологічних обстежень агроценозів засвідчили, що в цілому, багаторічні насадження достовірно більше заселені ентомопатогенними нематодами у 4,8 разів ($U = 27,5$, z -показник = 2,29464 при $p < 0,05$), ніж посіви польових культур – 12,1% проти 2,5% (у % від загальної кількості досліджених проб). Останнє можна пояснити специфічністю мікрокліматичних умов.

Найбільша кількість позитивних проб, в яких виявлено ентомонематод, припадає на багаторічні насадження (82,6%), зокрема старі необроблювальні плодоносні сади, представлені: розоцвітими, Rosaceae (кісточкові, зерняткові культури), ягідними (шовковицеві, Moraceae; маслинкові, Elaeagnaceae), та горіхоплідними (горіхові, Juglandaceae) культурами. Також ентомопатогенні нематоди знаходили в насадженнях хвойних вічнозелених декоративних культур (кипарисові, Cupressaceae). Значно в меншій мірі траплялись в ценозах різноманітних польових культур (17,4%), зокрема бобових (Fabaceae), гарбузових (Cucurbitaceae), гречкових (Polygonaceae) та айстрових (Asteraceae). Найбільшу кількість (21,7%) серед усіх позитивних проб отримано з-під насаджень яблуні домашньої (*Malus domestica* Borkh., 1803), а найменшу (2,1%) виявлено серед наступних культур: вишні звичайної (*Prunus cerasus* L., 1753), ялівецю звичайного (*Juniperus communis* L., 1753), люцерни посівної (*Medicago sativa* L., 1753), квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) та гарбуза звичайного (*Cucurbita pepo* L., 1753).

За нашими спостереженнями, представники роду *Steinernema* помітно переважали над *Heterorhabditis* (у співвідношенні 1,5:1), але виявлена різниця не була статистично достовірною ($U = 30,5$, z -показник = 0,10502 при $p < 0,05$) і носила характер тенденції. Слід зазначити, що *Steinernema* spp. поширені в різних агроценозах, тоді як *Heterorhabditis* spp. зустрічалися виключно в плодovих садах і хвойних декоративних багаторічних насадженнях.

Видовий склад ентомопатогенних нематод (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE) в агроценозах України. Наведено відомості про місця існування знайдених видів, поширення їх в Україні та світі, морфометричні особливості виявлених ізолятів, а також ілюстрації і детальні описи морфологічної будови ізолятів ентомопатогенних нематод.

Усі ізоляти ентомопатогенних нематод на основі дослідження основних морфолого-морфометричних параметрів віднесено до трьох видів: два представники – *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982 (рис. 5), *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (близький до представників групи «*glaseri*», відомих як «довготілесні нематоди») роду *Steinernema* родини Steienernematidae, та один вид – *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (рис. 6) роду *Heterorhabditis* родини Heterorhabditidae. Наведено список таксонів надвидового рангу ентомопатогенних нематод виявлених в агроценозах України.

Тип: NEMATODA Diesing, 1861

Клас: CHROMADOREA Inglis, 1983

Підклас: CHROMADORIA Pearse, 1942

Ряд: RHABDITIDA Chitwood, 1933

Підряд: RHABDITINA Chitwood, 1933

Інфраряд: RHABDITOMORPHA De Ley & Blaxter, 2002

Надродина: RHABDITOIDEA Örley, 1880

Родина: STEINERNEMATIDAE Filipjev, 1934

= NEOAPLECTANIDAE Sobolev, 1953

Рід: *Steinernema* Travassos, 1927

= *Steineria* Travassos, 1927 nec *Steineria* Micoletzky, 1922

= *Neoaplectana* Steiner, 1929

= *Patanodontus* de Villalobos & Camino, 1997

Вид *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts, Mráček, Gerdin & Bedding, 1982

= *Neoaplectana carpocapsae* Weiser, 1955

Вид *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (*glaseri*-подібні види

Steinernema: *S. glaseri* (Steiner, 1929) n.comb. (Wouts et al., 1982); *S. arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts та ін., 1982)

Надродина: STRONGYLOIDEA Baird, 1853

Родина: HETERORHABDITIDAE Poinar, 1976

Рід: *Heterorhabditis* Poinar, 1976

= *Chromonema* Khan, Brooks & Hirschmann, 1976

Вид *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976

= *Chromonema heliothidis* Khan, Brooks & Hirschmann, 1976
 = *Heterorhabditis heliothidis* (Khan, Brooks & Hirschmann, 1976) Poinar, Thomas & Hess, 1977

Встановлено, що ентомопатогенні нематоди проявляють неабияку мінливість за багатьма проаналізованими морфометричними характеристиками та індексами (М (min-max), мкм), що ускладнювало процес ідентифікації окремих ізолятів, зокрема це стосується *Steinernema* ex gr. «*glaseri*».

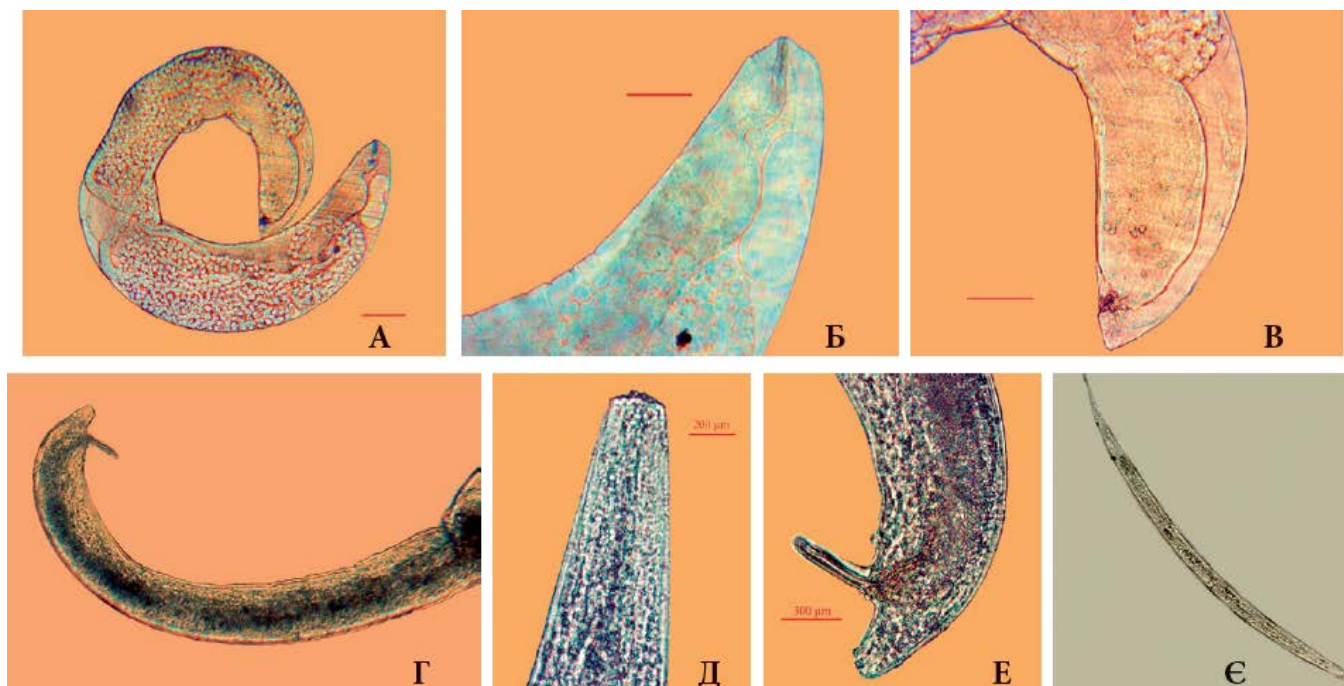


Рис. 5. *Steinernema carpocapsae* (ізолят DD-5): (А), (Б), (В) – ♀ I-ї генерації: А – загальний вигляд, Б – передній кінець тіла, В – каудальний кінець тіла; (Г), (Д), (Е) – ♂ I-ї генерації: Г – загальний вигляд (середня та задня частини тіла), Д – передній кінець тіла, Е – каудальний кінець тіла; (Є) – загальний вигляд інвазійної личини (L3) (світлова мікроскопія). Оригінал.

За аналізом морфолого-морфометричних параметрів інвазійних личинок (ЛІ), даний ізолят віднесено нами до т. зв. морфологічної групи «*glaseri*» (Sturhan Dieter, Mracek Zdenek, 2003). Наразі існує 5 таких груп, які показують взаємозв'язок між певними близькими видами ентомопатогенних нематод роду *Steinernema*, і базуються, переважно, на довжині тіла інвазійних личинок: група «*glaseri*» (ЛІ L=1000 мкм); група «*feltiae*» (ЛІ L=700-1000 мкм); група «*intermedium*» (ЛІ L= 600-700 мкм); група «*carpocapsae*» (ЛІ L=600 мкм). Існує ще одна невелика група «*bicornutum*», ЛІ якої відрізняються від решти тим, що мають дві характерні рогоподібні структури в області голови (Nguyen *et al.*, 2007).

З огляду на те, що у фауні України виявлений єдиний ідентифікований представник з групи «*glaseri*» – *Steinernema arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts та ін., 1982 (Yakovlev *et al.*, 2017), з високим ступенем імовірності можна припустити,

що виявлений нами ізолят належить саме до групи «довготілесних нематод» *Steinernema* «*glaseri*-group». Уточнення того, чи виявлений ізолят *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» є конспецифічним із *S. arenarium*, виявленим Yakovlev *et al.* (2017), чи навіть новим видом, потребує більш детального дослідження із застосуванням генетично-молекулярних методів, а також проведення експериментів по схрещуванню (кросбридингу).

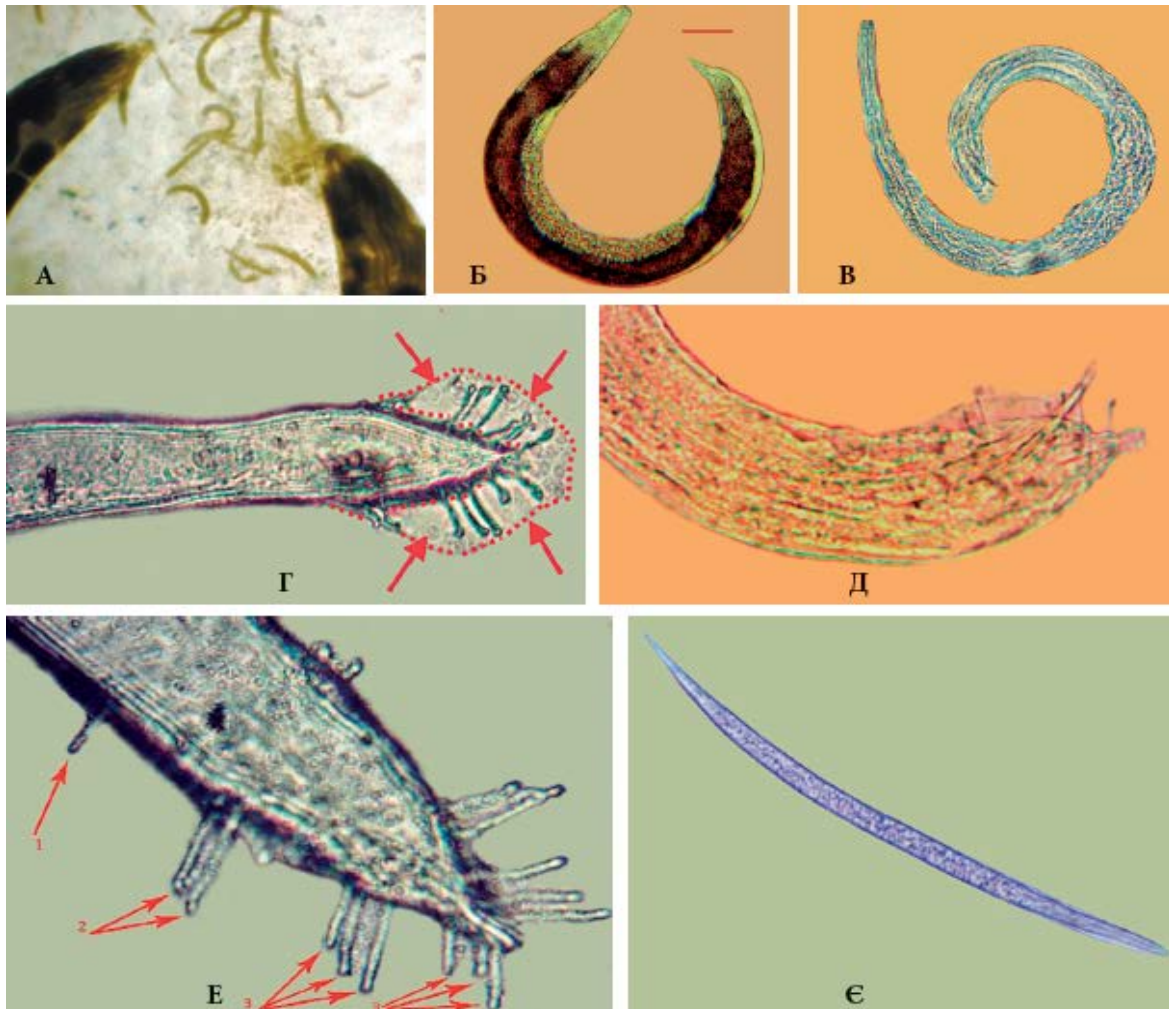


Рис. 6. *Heterorhabditis bacteriophora* (ізолят DD-14): А – ♀ I-ї генерації заповнена ювенільними личинками (т. зв. “*endotokia matricida*”), вихід личинок транскутикулярно; Б – загальний вигляд ♀ II-ї генерації; (В–Е) – ♂ II-ї генерації: В – загальний вигляд, (Г), (Д), (Е) – каудальні (хвостові) кінці тіла: Г – фронтальний вигляд, стрілками позначена бурса; Д – сагітальний вигляд, губернакулум та спікули; Е – стрілками позначені пари бурсальних папіл; Є – загальний вигляд інвазійної личинки (L3) (світлова мікроскопія).

Оригінал.

Виявлені в Чернігівській та Житомирській області локалітети ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) є новими місцезнаходженнями для видів *S. carpocapsae*, *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» та *H. bacteriophora* на території України.

4. ОЦІНКА ЕНТОМОЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ НЕМАТОД (STEINERNEMATIDAE) ЩОДО ҐРУНТОВИХ КОМАХ-ШКІДНИКІВ (SCARABAEIDAE)

Ідентифіковані нами види ентомопатогенних нематод (*Steinernema carpocapsae*, *Steinernema «glaseri»-group* та *Heterorhabditis bacteriophora*), згідно даних літератури (Martinez, Heriberto *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2023; Tatyana Stefanovska *et al.*, 2023), є одними з найбільш інтенсивно досліджуваних видів для використання в біологічному захисті рослин у якості біоагентів, і мають наукове та комерційне значення. Зважаючи на це, доцільним у даному аспекті є подальше вивчення патогенних властивостей виявлених цільових ентомопатогенів, відбір найбільш перспективних видів з корисними властивостями, як потенційних агентів біоконтролю та включення їх у вітчизняну систему інтегрованого захисту рослин боротьби зі шкідниками.

З цією метою нами були проведені дослідження біопотенціалу аборигенного ізоляту *Steinernema* sp. DD-5 (пізніше ідентифікований як вид *S. carpocapsae*) щодо місцевих ґрунтових шкідливих комах-фітофагів, а саме личинок західного травневого хруща (*Melolontha melolontha* L., 1758), у порівнянні з існуючим на ринку комерційним біологічним препаратом Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі виду *Steinernema feltiae* у лабораторних умовах за штучного інфікування (з розрахунку 100 інфекційних личинок/комахи).

Аналіз показників біологічної ефективності (% смертності за інфікування) та репродукційного потенціалу (здатність нематоди розвиватися в тілі загиблого хазяїна та продукувати інфекційні личинки) показав, що місцевий ізолят *Steinernema* sp. DD-5 не поступався комерційному препарату Entonem (табл. 1; рис. 7).

Встановлено, що 100% загибель комах відмічали на 3-й день (препарат Entonem), і 4-й день (місцевий ізолят *Steinernema* sp.); кількість особин інвазійних личинок ентомонематод, які евазували із однієї комахи також істотно не відрізнялася, і у середньому склала – 110 554 шт. (препарат Entonem) проти 92 370 шт. (місцевий ізолят *Steinernema* sp.) (табл. 1).

Щодо продуктивності різних періодів виділення інвазійних личинок, можна стверджувати, що найкращі показники отримано протягом 2-4 декад обліку як у дослідній групі із зараженням *S. feltiae* (препарат Entonem), так і у варіанті з місцевим ізолятом *Steinernema* sp. DD-5 (рис. 7). Найбільша кількість ІЛ виділилась у 2-гу декаду – 38,5% (Entonem) проти 51,0% (*Steinernema* sp., ізолят DD-5), досить багато їх виділилося протягом 3-ї декади – 26,0-30,0% відповідно. У першій декаді евазували (мігрували) від 3,8% (*Steinernema* sp. DD-5) до 4,7% ІЛ (Entonem), а в останню (п'яту) декаду, у більшості випадків, вихід ІЛ уже припинився, але якщо і продовжувався, то кількість личинок яка мігрувала в обох дослідних варіантах була незначною (<0,1%) (табл. 1; рис. 7).

За даними статистичного аналізу (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$) встановлено достовірну зміну цільових показників репродуктивного потенціалу у 4-ту декаду обліку серед дослідних варіантів «*Steinernema* sp. DD-5» і «*S. feltiae*, Entonem» ($U = 4$, z-показник = -2.16173 при $p < 0,05$), у решті випадків достовірної залежності між варіантами досліді не виявлено.

Таблиця 1

Біологічна ефективність та репродуктивний потенціал ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. щодо личинок 2-3 віку західного травневого хруща (*M. melolontha* L.) в лабораторних умовах¹

№ з/п	Варіант досліджу	% загиблих комах (n=6)			Тривалість виділення ІЛ (днів)		К-сть екз. ІЛ/комаху, шт, М (%)									
		після 2 дн.	після 3 дн.	після 4 дн.	початок після загибелі	загалом	подекадно за період									
							22.05-30.05	01.06-11.06	13.06-24.04	27.06-08.07	10.07-14.07	Всього, М (%)				
1	Контроль (дистильована вода)	0,0	0,0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	<i>Steinernema</i> sp. (ізолят DD-5)	50,0	83,3	100	9	45	3527 (3,8)	46961 (51,0)	27752 (30,0)	14040* (15,1)	90 (0,1)	92 370 (100)				
3	<i>Steinernema feltiae</i> (препарат Entonem)	50,0	100	0,0	6	52	5214 (4,7)	42620 (38,5)	28564 (26,0)	34020 (30,7)	136 (0,1)	110 554 (100)				

Примітка: ¹ – за інфікування суспензією нематод з розрахунку 100 інвазійних личинок/комаху; # – значення показника у дужках вказано у %; * – достовірна різниця між показниками варіантів порівняння «2» і «3» (U-критерій Манна-Уїтні; p<0,05). Умовні позначення: ІЛ – інвазійні личинки; М – дані представлені у формі середнє значення.

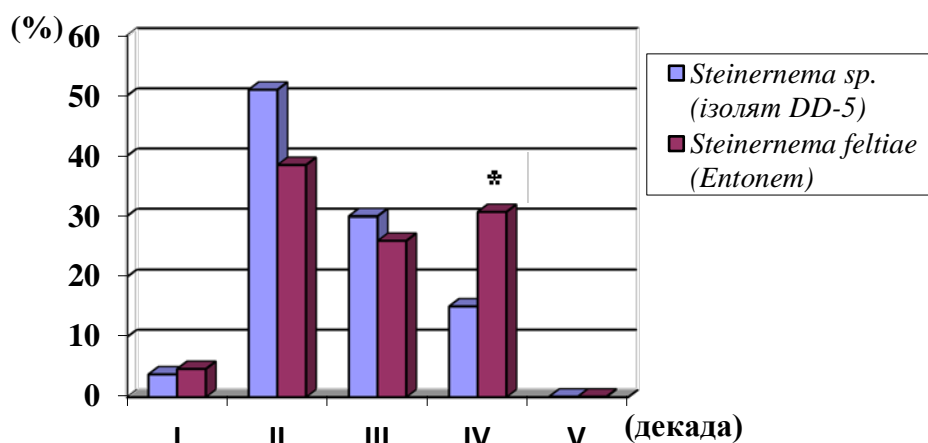


Рис. 7. Міграційна активність (подекадно) та репродукційний потенціал (у %) інвазійних личинок ентомопатогенних нематод *Steinernema sp.* (ізолят DD-5) та *Steinernema feltiae* (препарат Entonem). Примітки: * – достовірна різниця між показниками варіантів порівняння ($p < 0,05$). Оригінал.

5. ЕНТОМОНЕМАТОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ, ЯК СКЛАДОВА ІНТЕГРОВАНІХ СИСТЕМ ЗАХИСТУ РОСЛИН

На сьогодні поступово змінюється загальна концепція захисту рослин. Головна суть нової стратегії полягає не у повному знищенні шкідливих комах, а в управлінні їх чисельністю. Наголос робиться на відновленні, збереженні й підтриманні, наскільки це можливо, саморегуляції біоценозів, а конкретніше тих рушійних сил у них, котрі здатні стримувати масове розмноження шкідників. У цю концепцію, що отримала назву «інтегрований захист рослин», вписуються в якості одного із компонентів ентомопатогенні нематоди.

Особливості проведення моніторингу нематод – патогенів комах (Nematoda: Rhabditida) в агроценозах. На основі розробленої системи моніторингу фітопаразитичних нематод, нами здійснено певний трансфер методології нематологічного моніторингу, і створено підґрунтя для принципово нової концептуальної схеми – ентомонематологічного моніторингу нематод – патогенів комах (Nematoda: Rhabditida) – від виявлення й ізоляції (виділення) ентомопатогенів, до аналізу (оцінки) предикторів, необхідних для збереження і підвищення ефективності їх в агрофітоценозах. Окремі етапи якого адаптовані з врахуванням біолого-екологічних особливостей цільових ентомопатогенів.

Весь процес моніторингу включає десять послідовних етапів в чіткій послідовності (рис. 8):

- (1) обстеження мікроценозів комах та їх облік;
- (2) відбір проб ґрунту і (або) закладання ґрунтових пасток, збір мертвих зразків комах-хазяїв;
- (3) ізоляція / виділення нематод із ґрунтових проб та їх жертв – комах-хазяїв;
- (4) розмноження виявлених ізолятів нематод у «чистій культурі»;
- (5) штучне інфікування тест-комах «чистою культурою» нематод;

- (6) повторне виділення нематод від експериментально заражених тест-комах, фіксація матеріалу;
- (7) ідентифікація родової та видової належності;
- (8) картування осередків субпопуляцій еномопатогенних нематод;
- (9) визначення біопотенціалу (ентомоцидної активності) еномопатогенних нематод;
- (10) складання прогнозу та рекомендацій.

(Примітка. (1), (2), (3) – виконують у польових і лабораторних умовах, які умовно можна об'єднати під загальною назвою «індикація»; (4), (5), (6) – виконуються у лабораторних умовах і їх основний зміст полягає у дотриманні класичних постулатів Коха («тріада Коха») – критеріїв встановлення причинно-наслідкових зв'язків між мікроорганізмом та хворобою).

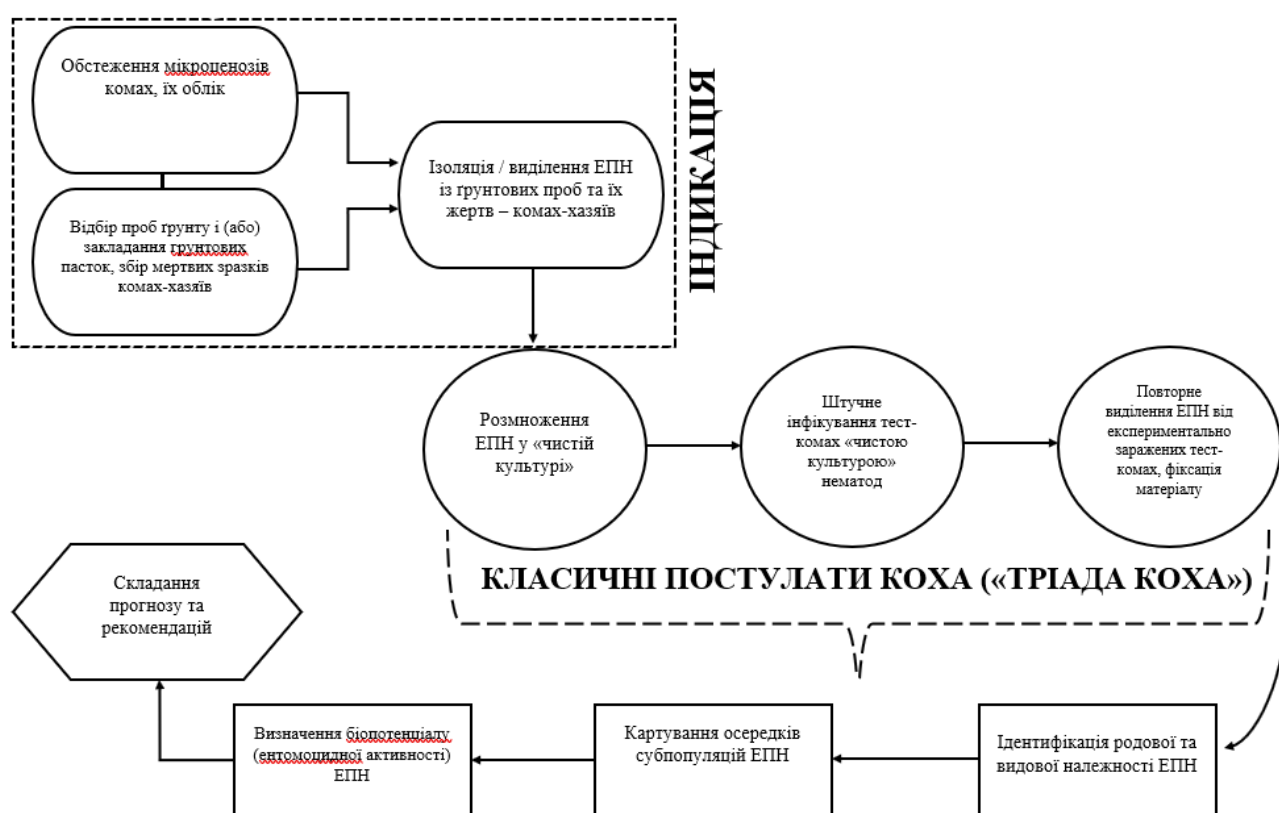


Рис. 8. Концептуальна схема ентонематологічного моніторингу в агроценозах (розроблено автором)

Ентонематологічний моніторинг досить складний феномен, що має дисциплінарний характер, кожен етап моніторингу має свої особливості. При проведенні моніторингу дотримуються його основних принципів: безперервність спостереження за об'єктами, періодичність зняття інформації про об'єкти моніторингу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено актуальне наукове завдання щодо пошуку ентомопатогенних нематод (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) – потенційних

біоагентів проти комах-шкідників на основі уточнення видового складу, особливостей їх поширення. Обґрунтовано й розроблено концептуальну схему етомонематологічного моніторингу агроценозів.

1. Результати нематологічного аналізу 312 проб (220 ґрунтових проб + 92 ґрунтових пасток), відібраних із агроценозів України засвідчили, 14,7% серед них виявились позитивними щодо ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae).

2. Ентомопатогенні нематоди виділено із агроценозів зони Полісся та Лісостепу України – Житомирська, Чернігівська та Київська області. Уперше виявлено локалітети ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. в зоні Полісся (Житомирська та Чернігівська області).

3. Виявлені ізоляти ентомопатогенних нематод віднесено до трьох видів: два представника – *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982 та *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» до роду *Steinernema* Travassos, 1927 родини Steiernerematidae, та один вид – *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 до роду *Heterorhabditis* Poinar, 1976 родини Heterorhabditidae. Один із них був звичайним та поширеним (*S. carpocapsae*), інші – відносно звичайними та рідкісними (*S.* ex gr. «*glaseri*», *H. bacteriophora*).

4. Поширення (% проб) та видова різноманітність ентомопатогенних нематод значно варіювали в залежності від місць обстежень, типу агрофітоценозу та домінуючого виду-утворювача агроценозу. Відносний показник заселеності ентомопатогенних нематод в районах зони Лісостепу не достовірно перевищував (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$) зону Полісся – 16,9% та 13,6% заражених проб відповідно. У зоні Степу не виявлено ентомопатогенних нематод. Багаторічні насадження у порівнянні з посівами польових культур статистично достовірно у 4,8 разів більше заселені ентомопатогенними нематодами (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$).

5. За частотою трапляння переважали стейнернематиди над гетерорабдитидами (60,8% проти 39,2%), але виявлені відмінності не мали достовірного характеру (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$) і носили характер тенденції. Представники з роду *Steinernema* надавали перевагу польовим культурам, з роду *Heterorhabditis* – багаторічним насаджень. Чіткої приуроченості видів ЕПН до конкретних культур сільськогосподарських не відмічено, але характерним є деяке тяжіння *Heterorhabditis bacteriophora* до кісточкових, зерняткових та ягідних культур, видів роду *Steinernema* до зернових та зернобобових, технічних культур.

6. Аналіз особливостей морфологічної мінливості популяцій виявлених видів ентомопатогенних нематод з родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* залежно від різних природних зон країни засвідчив, що такий фактор як географічна віддаленість, відіграє незначну роль у морфології ентомопатогенних нематод.

7. Мікроскопічний гельмінтологічний аналіз відловлених у природних умовах потенційно уражених та загиблих ґрунтових комах-хазяїв ентомопатогенних нематод – не виявив у них цільових ентомопатогенів.

8. Виявлено значну заселеність агроценозів України нематодами – патогенами комах (Nematoda), та їх переважання у ґрунтах агроценозів у порівнянні з деякими іншими ентомопатогенами (Fungi, Bacteria, Insecta), що призводять до інфекційних та

паразитарних захворювань комах: 15,0% серед 30,5% усіх позитивних проб із ентомопатогенами різної етіології.

9. Уперше відмічено явище гіперпаразитизму у тілі загиблих комах *Galleria mellonella* в природних умовах при виявленій мікст-інфекції, а саме – ентомофаго-нематодній паразитарній асоціації.

10. Порівняльна оцінка патогенності та репродуктивних показників місцевого ізоляту ентомопатогенних нематод (*Steinernema* sp.) з комерційним біопрепаратом Entonem (Нідерланди) на цільових об'єктах (*Melolontha melolontha* L.) засвідчила про стійку інсектицидну дію (100%) щодо комах родини Scarabaeidae.

11. Розроблено теоретико-методологічні засади та практичні рекомендації щодо здійснення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах, що дозволяє прогнозувати життєздатність комах-шкідників (грунто-живучих та приховано-живучих зокрема) і проводити своєчасні ефективні заходи захисту.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для поліпшення екологічного і фітосанітарного стану агроценозів та зменшення пестицидного навантаження на агроєкосистему необхідне широке впровадження екологічно безпечних заходів контролю шкідливих комах:

- проводити моніторинг корисних організмів – ентомопатогенних нематод в агроценозах для встановлення видового складу, їх розподілу та гостальної специфічності;

- визначати біопотенціал (ентомоцидну активність) аборигенних ізолятів ентомопатогенних нематод щодо домінуючих видів шкідників досліджуваного агроценозу.

2. Для контролю чисельності шкідників у агроценозах:

- виробникам біологічних препаратів пропонується новий високоінвазивний штам *Steinernema* sp. DD-5 (водна суспензія з концентрацією ~1000 екз. нематод/мл), що проявляє стійку інсектицидну дію проти місцевих грунто-живучих комах (Scarabaeidae), зокрема західного травневого хруща (*Melolontha melolontha* L.);

- застосовувати біологічний препарат Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) проти личинок західного травневого хруща *Melolontha melolontha* L. згідно рекомендацій виробника (за умов реєстрації препарату в Україні і подальшого включення до Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Сігарьова Д. Д., *Ковтун А. М.*, Харченко В. В. Ентомопатогенні нематоди в системі захисту сільськогосподарських культур від шкідливих комах. *Захист і карантин рослин*. 2015. Вип. 61. С. 280-290.

2. *Ковтун А.М.* Ентомонематологічні обстеження агроценозів України – як джерело виявлення чинників потенційного біоконтролю комах-шкідників. *Захист і карантин рослин*. 2016. Вип. 62. С. 133–142.

3. **Ковтун А. М.** Нові знахідки локалітетів ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) фауни України. *Карантин і захист рослин*. 2023. №2(273). С. 39-45.

4. **Kovtun A.**, Petrenko S. Frequency of occurrence and identification of nematodes among entomopathogenic organisms in agroecosystems of Ukraine. *GEO&BIO*. 2023. Vol. 24. P. 214–224.

5. **Ковтун А. М.** Індикація та ідентифікація ентомопатогенних нематод Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae. *Карантин і захист рослин*. 2023. №4(275). С. 21-31.

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз

6. Sigareva D. D., **Kovtun A. M.**, Korniyushin V. V. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) from agricultural ecosystems in forest (Polissya) and forest-steppe natural zones of Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2019. 53(4). P. 285-296.

Статті у наукових періодичних виданнях інших держав

7. Сигарева Д. Д., Харченко В.В., Чигрин Н.А., Болтовская Е.В., **Ковтун А.Н.** Размножение энтомопатогенных нематод рода *Steinernema* на личинках майского жука (*Melolontha melolontha*) в лабораторных условиях. *Вестник палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта*, 2018. – №1. – С. 72–76.

Тези доповідей та матеріали конференцій

8. **Ковтун А. М.** Нові знахідки нематод – патогенів комах (*Steinernema* sp., *Heterorhabditis* sp.) в агроценозах Полісся та Північного Лісостепу України. *Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур*. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.). Вінниця, 2016. С. 51-52.

9. **Ковтун А. М.** Поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* в агробіоценозах Полісся та Лісостепової зони України. *Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем АПК: Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених* (Житомир, 14 липня 2016 рік). Житомир, 2016. С. 58-62.

10. **Ковтун А. М.** Частота виявлення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* — природних регуляторів чисельності шкідливих комах в агроценозах України. *Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин: міжнародна науково-практична конференція* (Київ, 7–9 листопада 2016 р.). Київ, 2016. С. 44-46.

11. Сігарьова Д. Д., **Ковтун А. М.**, Болтовська О. В. Нематоди – патогени комах (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) як складова частина агроценозів України. *XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП)* (Львів, 18–21 вересня 2017 р.). Львів, 2017. С. 61.

12. **Ковтун А. М.** Особливості діагностики нематодозів комах, викликані ентомонематодами з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae (Nematoda:

Rhabditida). *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині: III Всеукраїнська науково–практична інтернет-конференція*. (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.). Полтава, 2018. С. 101-104.

13. **Ковтун А. М.** Ентомопатогенні нематоди (Nematoda: Rhabditida) в ґрунтах агроценозів України. *XI Наукова конференція молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві»*. (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Чернігів, 2018. С. 65-68.

14. **Ковтун А. М.**, Бондар Л. П. Видовий склад та зональна поширеність ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) в агроценозах України. *Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії: матеріали науково-педагогічного підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства*. (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021р.). Одеса, 2021. С. 37-42.

15. **Ковтун А.М.** Ідентифікація ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae), виділених із агроценозів України. I Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти». (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.). Одеса, 2021. С. 315-318.

16. **Ковтун А.М.** Розробка концепції комплексного ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. *III Всеукраїнська науково-практична конференція: "Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024"*. (Житомир, 31 травня 2024 р.). Житомир, 2024. С. 45-46.

АНОТАЦІЯ

Ковтун А.М. Видовий склад, поширення ентомопатогенних нематод в агроценозах України. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 16.00.10 – ентомологія. – Інститут захисту рослин НААН України, Київ, 2025.

У дисертаційній роботі висвітлено результати дослідження фауни ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida), їх поширення в агроценозах України та біопотенціал (ентомоцидна активність) в якості біоагентів проти ґрунтових комах-шкідників (Scarabaeidae), а також запропоновано концептуальний системний підхід до проведення ентомонематологічного моніторингу агроценозів.

За результатами нематологічних аналізів 312 проб (220 ґрунтових проб та 92 «живих» пасток), відібраних із ґрунту під час обстежень різних агроценозів України встановлено, що 14,7% виявились позитивними щодо ентомопатогенних нематод з родин Steienernematidae Filipjev, 1934 та Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida). Найбільша кількість позитивних проб, в яких виявлено ентомопатогенних нематод, припадає на багаторічні насадження (82,6%), в меншій мірі траплялись на посівах різноманітних польових культур (17,4%). У 60,8% від загальної кількості позитивних проб зареєстровано представників з родини Steienernematidae роду *Steinernema* Travassos, 1927, і у 1,5 рази менше (39,2%) з родини Heterorhabditidae роду *Heterorhabditis* Poinar, 1976. Виявлені ізоляти ентомопатогенних нематод віднесено до трьох видів: *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982, *Steinernema*

ex gr. «*glaseri*» (близький до представників групи «*glaseri*»), та *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976.

Встановлено, що видовий склад, частота трапляння (%) ентомопатогенних нематод варіювали в залежності від місць обстежень, типу агроценозу, а також домінуючого виду «утворювача» агроценозів. Деякі види ентомонематод є досить стенотопними: віддають перевагу лише певним типам агроценозів (вид *H. bacteriophora*), а інші навпаки – евритопні і заселяли різноманітні сільськогосподарські угіддя (вид *S. carpocapsae*).

Встановлено, що нематоди – патогени комах (*Nematoda*) виявлялися частіше з агроценозів у порівнянні з деякими іншими ентомопатогенами різної етіології (*Fungi*, *Bacteria*, *Insecta*), що зумовлювали інфекційні та паразитарні патології комах.

Уперше відмічено явище гіперпаразитизму в природних умовах у тілі загиблих комах *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) при змішаній інфекції (мікст-інфекції) – нематодозно-ентомозній патології.

Встановлено, що личинки 2-3 віку західного травневого хруща (*Melolontha melolontha* L., 1758) чутливі до зараження місцевим штамом ентомопатогенних нематод *Steinernema* sp. DD-5 в лабораторних умовах, а показники біологічної ефективності та репродуктивного потенціалу щодо цільового хазяїна не поступалася комерційному препарату Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі виду *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982.

Запропоновано теоретико-методологічне забезпечення здійснення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах.

Ключові слова: ентомопатогенні нематоди, *Nematoda*, агроценоз, шкідливі комахи, біологічний захист рослин, Україна.

ABSTRACT

Species composition, distribution of entomopathogenic nematodes in agroecosis of Ukraine. – Manuscript copyright.

Thesis for a PhD Degree in Agriculture specializing in 16.00.10 – entomology. – Institute of Plant Protection of the NAAS, Kyiv, 2025.

The thesis is devoted to the study of the fauna of entomopathogenic nematodes (hereinafter – EPN's) (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae), their distribution in agroecosis of Ukraine and to study their biopotential (entomocidal activity) against soil-borne insect pests (Scarabaeidae), and a conceptual systematic approach to entomonematological monitoring of agroecosis is also proposed.

The theoretical part of the thesis presents the modern taxonomy and systematics of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae), as well as the characteristic features of their diagnosis. When considering the genera of EPN's, the following are investigated: synonymy, type species, number of valid species in the world fauna and fauna of Ukraine, as well as species considered as '*species inquirendae*' and '*nomina nuda*'. Further in the theoretical chapter presents the history of EPN's research in the global context, as well as summarises the main directions and scientific achievements research in Ukraine; analyses the geographical distribution of EPN's at the global and continental levels (macro distribution); considers their role as natural regulators of insect pests in agroecosis, and highlights the biological and ecological features of

entomopathogenic nematodes.

According to the results of nematological analyses of 312 samples (220 soil + 92 live-trap samples) collected from the agricultural soil during surveys of various agrocenosis of Ukraine, it was found that among the samples 46 pcs (14.7%) were positive for entomopathogenic nematodes from the families Steinernematidae Filipjev, 1934 and Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida). The highest number of positive samples with EPN's was found soil of plantings of perennial crops (38 pcs, or 82.6%), in particular, where no chemicals are used for old fruit trees, represented by: rosaceous plants, Rosaceae (stone fruit and pome fruit crops), berries (mulberry family, Moraceae; oleaster family, Elaeagnaceae), and nut plants (walnut family, Juglandaceae). Also, entomopathogenic nematodes were found in plantations of some coniferous decorative plants (cypress family, Cupressaceae). To a lesser extent, these nematodes were found in land planted with row crops (8 pcs, or 17.4%), including legumes (Fabaceae), cucurbits (Cucurbitaceae), knotweed (Polygonaceae), and aster family (Asteraceae).

In 60.8% of the total number of EPN-positive samples, representatives of the family Steinernematidae of the genus *Steinernema* Travassos, 1927, and 1.5 times less (39.2%) of the family Heterorhabditidae of the genus *Heterorhabditis* Poinar, 1976 were recorded. The detected isolates of entomopathogenic nematodes were assigned to three species – two species to the genus *Steinernema*: *S. carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982, *Steinernema* ex gr. 'glaseri' (representative of the "glaseri" group), and one species of the genus *Heterorhabditis* – *H. bacteriophora* Poinar, 1976. One of them was common and widespread (*S. carpocapsae*), while the others nematode species were relatively common and rare (*Steinernema* ex gr. 'glaseri', *H. bacteriophora*). It was found that entomopathogenic nematodes show significant variability in many analysed morphometric characteristics and indices ($M \pm m$, μm), which complicated the process of identification of individual isolates (in particular, *Steinernema* ex gr. 'glaseri'). The identification of the species of entomopathogenic nematodes was carried out using a combination of morphological and morphometric methods and special determinants.

According to our survey, the species composition, the frequency of occurrence (%) of entomopathogenic nematodes varied depending on the geographic location (e. g., areas, regions, etc.), the type of agrocenosis, and on the dominant plant species (or species-edificators). For the first time, localities of entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. were found in Polissya zone (Zhytomyr and Chernihiv Regions), which significantly deepens knowledge about the specifics of the nematode fauna of Ukraine.

The analysis of the peculiarities of morphological variability of populations of the identified species of entomopathogenic nematodes depending on different eco-regions (agro-ecologic zones) of the country showed that such a factor as geographical remoteness plays a minor role in the morphology of entomopathogenic nematodes.

Some EPN species are quite stenotopic: they prefer only certain types of agrocenosis. For example, *Heterorhabditis bacteriophora* has been detected in orchards of fruit and berry crops and plantations of perennial ornamental plants. *Steinernema carpocapsae*, on the other hand, is a ubiquitous species that inhabited various agricultural lands, including field crops such as cereals and legumes, industrial and vegetable crops, the vast majority of which were concentrated in the main areas of traditional cultivation of these crops.

Insect pathogenic nematodes (*Nematoda*, pathogens – species from the genera *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp.) were detected more often from agroecosystems compared to some other entomopathogenic organisms of different etiologies (*Fungi*, *Bacteria*, *Insecta*), that caused infectious and parasitic diseases of insect.

For the first time, the phenomenon of hyperparasitism in natural conditions with nematodosis-entomosis co-infection inside dead *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) larvae was recorded. This fact is of considerable scientific and practical interest, since, for example, it allows for a more rational combined use of both groups of biological pest control agents to increase their insecticidal effectiveness.

Analysis of the entomocidal activity of the identified isolates of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* sp.) against harmful insects (*Melolontha melolontha* L., 1758) under artificial infection (100 infective juveniles per insect) in laboratory conditions, and the study of the reproductive potential of entomopathogens in the target host showed that larvae of 2nd-3rd-instars of the cockchafer are sensitive to infection with the local strain of EPN, and the biological efficacy is not inferior to the commercial microbial product [(an entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 commercially available as Entonem® (Koppert Biological Systems, The Netherlands)]: 100% mortality of insects was observed on day 3 (Entonem) or day 4 (local strain of *Steinernema* sp.); the number of EPN juveniles that evaded one insect also did not differ significantly, and on average was 110,554 (Entonem) against 92,370 (local strain of *Steinernema* sp.).

Laboratory analysis of dead and diseased soil-living insect pests (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Scarabaeidae; Lepidoptera: Noctuidae; Orthoptera: Gryllidae; Hymenoptera: Formicidae; Diptera) collected and captured in nature (>100 specimens) for their infection with entomopathogenic nematodes did not reveal any infestations.

Based on the research data obtained, the theoretical and methodological support for the implementation of entomonematological monitoring in agroecosystems is proposed. The use of its data, in particular, on the distribution, composition and pathogenic (entomocidal) properties of native populations of EPN's, will ultimately provide a more accurate prediction of the viability of certain insect pests (soil-living in particular) in the agroecosystems and suggest appropriate protection measures.

Key words: *entomopathogenic nematodes, Nematoda, agroecosystems, pests, biological plant protection, Ukraine.*

Підписано до друку 27.01.2025р. Зам. №33
Формат 60x84 1/16. Папір офсетний. Друк цифровий.
Наклад 100 примірників. Ум.друк.арк 1.6.

Друк "ПРІНТЕКО" ТОВ
м. Київ, вул. Предславинська, 28
050 238-77-33
printeco@ukr.net