Захист і карантин рослин. 2018. Вип. 64.
УДК: 632.937

О.А. СІКУРА, кандидат сільськогосподарських наук
В.М. ГУНЧАК, кандидат сільськогосподарських наук
Українська науково-дослідна станція карантину рослин Інституту захисту рослин НААН

МОЖЛИВІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ НЕМАТОД ТА ЕНТОМОФАГІВ В ЯКОСТІ БІОАГЕНТІВ ЗАХІДНОГО КУКУРУДЗЯНОГО ЖУКА (*DIABROTICA VIRGIFERA VIRGIFERA* LE CONTE)

Наведено результати досліджень щодо можливості застосування ентомопатогенних нематод та ентомофагів проти західного кукурудзяного жука. Встановлено, що досліджувані біоагенти здатні регулювати чисельність Diabrotica virgifera virgifera Le Conte. Одержані результати показали перспективність використання цих біологічних агентів для контролю фітофага.

західний кукурудзяний жук, біоагенти, пошук, ентомопатогенні нематоди, ентомофаги

Агресивні види шкідників, до яких належить й інвазійний вид *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte, присутній в Україні, несуть загрозу народному господарству, особливо господарствам, що спеціалізуються на вирощуванні кукурудзи.

Одним із компонентів інтегрованого захисту рослин є біологічний метод, який передбачає використання проти шкідливих видів комах біоагентів, здатних контролювати їхню чисельність. Сучасні тенденції використання природних ворогів в управлінні шкідниками актуальні в зв'язку з тим, що не викликають ефекту забруднення навколишнього середовища.

Обмеження застосування інсектицидів у боротьбі зі шкідниками спонукають до максималізації ролі біологічного контролю. Тому в США та країнах Європи проводяться дослідження з розробки більш ефективних засобів використання природних ворогів для захисту від західного кукурудзяного жука (ЗКЖ), що дасть змогу в майбутньому провадити їхній підбір та застосування в біологічному методі боротьби з даним організмом [1].

Ентомопатогенні нематоди. Для визначення можливості викорис-

© О.А. Сікура, В.М. Гунчак, 2018.

тання ентомопатогенних нематод проти ЗКЖ проводяться як лабораторні, так і польові дослідження щодо окремих їх видів. Найбільш вивченими серед них є родини Steinernematidae та Heterorhabditidae. Ентомопатогенні нематоди родини Steinernematidae є потенційно можливими біологічними агентами для різних видів комах, оскільки їм властиве широке коло комах-живителів та можливість достатньо швидко викликати їхню загибель [2, 3]. На личинках *D. virgifera virgifera* успішно паразитують нематоди *S. carpocapsae,* які здатні спричинити загибель 90% шкідника [4].

Для визначення вірулентності по відношенню до личинок 3-го віку та імаго ЗКЖ вивчали види *Steinernema glaseri, S. arenarium, S. abassi, S. bicornutum, S. feltiae, S. kraussei, S. carpocapsae* та *Heterorhabditis bacteriophora*. За лабораторного зараження нематодами личинок та лялечок шкідника використовували три види нематод: *Heterorhabditis bacteriophora, H. megidis* та *Steinernema feltiae*. У результаті встановлено, що вид *Heterorhabditis bacteriophoram* (Nematoda: Rhabditida) є найбільш ефективним для контролю чисельності фітофага й тому був відібраний для подальшого тестування в якості агента біологічного контролю ЗКЖ [5, 6].

Згідно з опублікованими даними нематоди, окрім ураження личинкових стадій розвитку видів *Diabrotica*, уражують жуків тоді, коли вони виходять із ґрунту, або проникають у ґрунт, для відкладання яєць [7]. Лабораторними дослідженнями виявлено паразитизм імаго ЗКЖ нематодами *S. feltiae*, *Steinernema anomali*, *H. bacteriophora* та різними штамами *Steinernema* spp. й *Heterorhabditis* spp. [5, 8].

Застосовувати нематод слід водночас з появою найбільш чутливих до них віків личинок (II—III вік). В якості критерію ефективності дії використовували оцінку ступеня пошкодження коренів, а не обліки кількості личинок на коренях рослин, оскільки личинки можуть виживати, якщо вони були захищені від інфікування при живленні в середині коренів кукурудзи [9].

Ентомофаги. Ентомофаги є одним з елементів біологічного контролю шкідників. Однак спеціалізовані паразити та хижаки шкідника можуть бути відсутніми в Європі, оскільки вони існують тільки в області походження виду. За їхньої відсутності популяції *Diabrotica* у південно-східній частині Європи обмежуються лише наявністю кормової рослини, впливом абіотичних факторів та заходами контролю чисельності (хімічний обробіток, сівозміна) [10].

Румунські дослідники встановили, що види павуків *Speira diademata, Argiope bruennichi, Theridion impressum* (Arachnida: Araneae), *Argiope bruennichi* (Araneae: Araneidae), *Theridion impressum* (Araneae: Theriidae) та хижий турун *Pseudophomus rufipes* здатні скорочувати популяції шкідника. Також виявили, що терміни появи імаго ЗКЖ (червень —

липень) збігаються з періодом, коли в агроценозах кукурудзи є ці ентомофаги [11].

Проведені в Угорщині пошуки біоагентів діабротика дали змогу встановити, що види павуків *Theridion pictum*, *Achaearanea tepidariorum*, *Enoplognatha latimana*, які присутні в агроценозах кукурудзи південної частини Угорщини, є ентомофагами імаго ЗКЖ [12].

Північноамериканські вчені здійснили чисельні дослідження з вивчення хижих ентомофагів — турунів (Carabidae), жуків-карапузиків, стафілінід, дермістід, міріапод (багатоніжок), павуків, які здатні знищувати яйця *D. virgifera virgifera*. Також встановлено, що мурахи *Lasius neoniger* здатні значно зменшувати чисельність личинок шкідника [13]. Отже, у США та країнах Європи проводяться наукові дослідження, спрямовані на пошук ефективних біоагентів для контролю чисельності фітофага.

Мета досліджень – пошук ентомопатогенних нематод і ентомофагів та визначення можливості їхнього використання в якості біоагентів *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte.

Матеріали та методи досліджень. Пошук біоагентів ЗКЖ проводили упродовж вегетаційного сезону на преімагінальних стадіях розвитку шкідника в його популяціях Закарпатської області в посівах кукурудзи, що вирощувалась в монокультурі. Ентомопатогенних нематод виділяли безпосередньо із личинок діабротики та інших ґрунтових шкідників, що були зібрані в посівах кукурудзи, та із ґрунту.

З тіл личинок виділяли нематод за допомогою пасток методом White [14].

Пастка White складається із пластикового контейнера розміром 9 × 9 × 6 см, заповненого водою до 1 см. У контейнер ставиться перевернута догори дном чашка Петрі. На чашку Петрі поміщають фільтрувальний папір таким чином, щоб його краї торкалися води. Личинок розміщували на фільтрувальному папері в центрі контейнера, який накривали кришкою, та інкубували за кімнатної температури 20—22°С до виходу інвазійних нематод (приблизно 8—10 діб), які опускалися по фільтрувальному паперу у воду.

Для виділення ентомопатогенних нематод із ґрунту відбирали його зразки масою 500 г. Надалі відібраний ґрунт у лабораторії поміщали в пластикові горщики розмірами 9 × 6 см. У кожен горщик вносили по 5 личинок вощинної молі (*Galleria mellonella*) таким чином, щоб забезпечити тісний їхній контакт із ґрунтом. Горщики інкубували 5—7 діб за температури 23—25°С. Після інкубації загиблих личинок вощинної молі вилучали, промивали водою й поміщали в пастку White для виділення нематод [15]. Спостерігали за виходом ентомопатогенних нематод із тіл *Galleria mellonella* за допомогою мікроскопа МБС-10.

Пошук хижих та паразитичних ентомофагів здійснювали способом

фауністичних зборів у посівах кукурудзи та в різних біотопах (луки, необроблені землі, поля сівозміни тощо) за методикою К.К. Фасулаті (1971) [16]. Видовий склад зібраних ентомофагів визначали на кафедрі ентомології Ужгородського національного університету. За результатами досліджень аналізували можливості та доцільність подальшого вивчення ентомофагів для застосування в якості біоагентів, що здатні регулювати чисельність ЗКЖ.

Результати досліджень. Ентомопатогенних нематод у личинках ЗКЖ не виявили. Однак, за ґрунтових розкопок в агроценозах кукурудзи були відібрані личинки *Melolontha melolontha* L. з нехарактерним забарвленням, у яких були виявлені нематоди родини Heterorhabdtidae. Також ентомопатогенні мермітіди були виявлені в ґрунтових пробах, відібраних у яблуневому саду (с. М. Березний).

Як вже зазначали, ентомопатогенних нематод у особин ЗКЖ не виявлено. На наш погляд, це пояснюється тим, що ентомопатогенним нематодам після появи нового виду комахи-живителя для прояву їхньої паразитичної дії необхідний тривалий проміжок часу. Оскільки уражені нематодами *Melolontha melolontha* L. були зібрані в агроценозах кукурудзи, де присутні личинки діабротики, то можна припустити наявність ентомопатогенних нематод та ураження ними личинок ЗКЖ у природних умовах.

Згідно з літературними даними [5], нематоди, окрім ураження личинок ЗКЖ, уражують також і жуків, коли вони виходять з ґрунту або проникають у нього для відкладання яєць. Тому, щоб з'ясувати – чи будуть виявлені нематоди родини *Heterorhabdtidae* уражувати личинок та імаго діабротики, в лабораторних умовах були закладені досліди з визначення їх інсектицидної дії. Зараження личинок та імаго ЗКЖ відбувалось шляхом внесення в знезаражений ґрунт суспензії виявлених ентомопатогенних нематод (табл. 1).

З таблиці 1 видно, що при навантаженні нематод 160 особин/мл смертність личинок діабротики становила 31,2%, а при навантажені 540 особин/мл загинуло 68,7% личинок та 61,2% імаго шкідника. Таким чином, одержані нами результати інсектицидної дії нематод

1. Загибель личинок та імаго ЗКЖ від ентомопатогенних нематод родини Heterorhabdtidae

Об'єкт, де виявлено ентомопатогенних нематод	**Навантаження нематод у досліді, особин/мл**	**Загинуло особин *D. virgifera*, %**	
		личинок	**імаго**
Личинки *Melolontha melolontha* L.	160	32,1	–
Ґрунт (яблуневий сад)	540	68,7	61,2

проти ЗКЖ показали, що виділені нами мермітіди здатні уражувати та призводити до загибелі як личинок так і імаго ЗКЖ і збігаються з даними, наведеними в наукових джерелах. Оскільки збір уражених мермітідами *Melolontha melolontha* L. проводився в агроценозах кукурудзи, де були присутні личинки діабротики, то можна припустити наявність ентомопатогенних нематод та ураження ними личинок *D. virgifera* в природних умовах. Тому є необхідність у подальших дослідженнях щодо застосування нематод у якості біоагентів ЗКЖ.

У результаті проведеного пошуку в агробіоценозі кукурудзи виявлено потенційних ентомофагів ЗКЖ з рядів: жорсткокрилі (Coleoptera), вуховертки (Dermaptera), напівтвердокрилі (Hemiptera), перетинчастокрилі (Hymenoptera), сітчастокрилі (Neuroptera), павуки (Araneae) (табл. 2).

2. Видовий склад ентомофагів, виявлених у агробіоценозі кукурудзи Закарпатської області

Ряд	Рід, вид	Частка від загальної кількості еннтомофагів, %
Coleoptera	*Coccinella septempunctata* L.	26
	Adalia bipunctata L.	13
Dermaptera	*Forficula auricularia* L.	20
Hemiptera	*Arma custos* F.	5
Hymenoptera	*Polistes* Sp.	15
Neuroptera	*Chrysopa perla* L.	3
Arachnida	*Araneae* Sp.	17

Всі виявлені ентомофаги (табл. 2) є поширеними мезофілами й відносяться до зоофагів. Однак, серед виявлених ентомофагів, незважаючи на незначну їхню чисельність, для подальшого вивчення в якості біоагента *D. virgifera virgifera* відібрано хижого клопа *Arma custos* F. оскільки він здатний знищувати 150 видів комах, у тому числі й листоїдів, до яких відноситься західний кукурудзяний жук.

ВИСНОВКИ

У результаті проведеного пошуку біоагентів ЗКЖ в його популяціях Закарпатської області були виявлені ентомопатогенні нематоди родини Heterorhabdtidae.

Встановлено, що виявлені нематоди родини Heterorhabdtidae здатні уражувати й призводити до загибелі 68,7% личинок та 61,2% імаго ЗКЖ, що збігається з даними, наведеними в наукових джерелах.

Серед ентомофагів перспективним для подальшого вивчення

в якості біоагента *D. virgifera virgifera* є хижий клоп *Arma custos* F., оскільки він живиться багатьма видами комах, у тому числі й листоїдами, до яких належить ЗКЖ.

Застосування біоагентів, що мають потенціал до регуляції чисельності ЗКЖ, дасть змогу покращити екологічний стан навколишнього середовища та зменшити навантаження пестицидами в агроценозах. Крім того, використання біологічних агентів при проведенні фітосанітарних заходів дає можливість локалізувати вогнища шкідника та контролювати його чисельність у природоохоронних і водоохоронних зонах, де використання хімічних препаратів заборонено.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК

1. *Kuhlmann U.*, *Wiard A. Van Der Burgt C.M.* Possibilities for biological control of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte in Central Europe. *Biocontrol News and Information.* 1998. Vol. 19 (2). P. 59—68.

2. *Kaya H.K., Gaugler R.* Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 1993. Vol. 38. P. 181—206.

3. *Gaugler R., Campbell J.F., McGuire T.R.* Fitness of a genetically improved entomopathogenic nematode. *Journal Invertebr. Pathol.* 1990. Vol. 56. P. 106—116.

4. *Nickle W.R., Conick W.J., Cantelo W.W.* Effects of Pesta-pelletized Steinernema on Western Corn Rootworms and Colorado Potato Beetles. *Journal of Nematology.* 1994. Vol. 26. P. 249—250.

5. *Toepfer S., Gueldenzoph C., Kuhlmann U.* Screening of entomopathogenic nematodes for virulence against the invasive western corn rootworm Diabrotica virgifera virgifera (Coleoptera: Chrysomelidae) in Europe. *Bull Entomol Res.* 2005. Vol. 95. P. 473—482.

6. *Kurtz B., S. Toepfer, U. Kuhlmann* Assessment of establishment and persistence of entomopathogenic nematodes for biological control of western corn rootworm. *Journal Appl Entomol.* 2007. Vol. 131(6). P. 420—425.

7. *Ehlers U.,* Kuhlmann U., Toepfer S. Field results on the use of *Heterorhabditis bacteriophora* against the invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera.* IOBC/wprs Bulletin. — 2008. Vol. 31. P. 47—53.

8. *Kurtz B.*, *I. Hiltpold, T. Turlings.* Comparison of the infectiousness of entomopathogenic nematodes among larval instars and pupae of the western corn rootworm. *BioControl.* 2008. Vol. 54. P. 255—265.

9. *Poinar G.O., J.S. Evans, E. Schuster.* Field test of the entomogenous nematode, Neoplectana carpocapsae. for control of corn rootworm larvae (Diabrotica sp., Coleoptera). *Prot. Ecol.* 1983. Vol. 5. P. 337—342.

10. *Toepfer S., Hayea T., Erlandsonb M.* A review of the natural enemies of beetles in the subtribe Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae): implications for sustainable pest management. *Biocontrol Science and Technology.* 2009. Vol. 19 (1). P. 1—65.

11. *Grozea I., Carabet A., Chirita R.* Natural enemies in control of invasive species Diabrotica virgifera virgifera from maize crops. *Banat University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*, Plant Protection Department Timisoara, Romania. Commun *Agric Appl Biol Sci*. 2008. Vol. 73 (3). P. 501—508.

12. *Tóth F., Horváth L., Komáromi J.* Field Data on the Presence of Spiders Preying on Western Corn Rootworm (Diabrotica virgifera virgifera LeConte) in Szeged Region, Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 2002. Vol. 37 (1—3). P. 163—168.

13. *Brust G.E., Stinner B.R., McCartney D.A.* Predatory activity and predation in corn agroecosytems. *Environmental Entomology*. 1986. Vol. 15. P. 1017—1021.

14. *White G.F.* A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*. 1927. Vol. 66. P. 302—303.

15. *Bedding R.A., Akhurst R.F.* A simple tehnique for the detection of insect parasitic rhabditis nematodes in soil. *Nematologica*. 1975. Vol. 21. P. 109—110.

16. *Фасулати К.К.* Полевое изучение наземных беспозвоночных. Москва: Высшая школа, 1971. 424 с.

Сикура А.А., Гунчак В.М. Возможность использования энтомопатогенных нематод и энтомофагов в качестве биоагентов западного кукурузного жука (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte)

Приведены результаты исследований по изучению возможности применения энтомопатогенных нематод и энтомофагов против западного кукурузного жука. Установлено, что исследуемые биоагенты способны регулировать численность Diabrotica virgifera virgifera Le Conte. Полученные результаты показали перспективность использования этих биологических агентов для контроля фитофага.

Sikura A., Gunchak V. The possibility of using entomopathogenic nematodes and entomophages as bioagents of the western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte)

The article presents the results of studies on the possibility of using entomopathogenic nematodes and entomophages against the western corn rootworm. It is established that the bioagents under study are able to regulate the number of Diabrotica virgifera virgifera Le Conte. The obtained results showed the prospects of using these biological agents for phytophage control.